

علم الفيروسات



تأليف

د. ماهر البسيوني حسين



جامعة الملك سعود

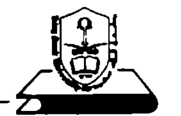
النشر العلمي والمطابع


بسم الله الرحمن الرحيم

علم الفيروسات

تأليـف
الدكتور / ماهر البسيوني حسين

أستاذ علم الفيروسات
بقسم النبات والأحياء الدقيقة
كلية العلوم - جامعة الملك سعود
الرياض



النشر العلمي والمطابع - جامعة الملك سعود
ص.ب ٦٨٩٥٣ - الرياض ١١٥٣٧ - المملكة العربية السعودية

الطبعة الأولى ١٤٢٢هـ

فهرسة مكتبة الملك فهد الوطنية أثناء النشر

حسين ، ماهر البسيوني

علم الفيروسات . / ماهر البسيوني حسين – ط٢ . – الرياض ، ١٤٢٧هـ

٦٩٠ ص ؛ ١٧×٢٤ سم

ردمك: ١-٦٢-٠-٥٥-٩٩٦٠

١- علم الفيروسات ٢- الأحياء الدقيقة أ. العنوان

ديوي ٥٧٦,٦٤ ١٤٢٧/٦١٤٤

رقم الإيداع: ١٤٢٧/٦١٤٤

حكمت هذا الكتاب لجنة متخصصة ، شكلها المجلس العلمي بالجامعة ، وقد وافق المجلس العلمي على إعادة طبعه في اجتماعه الثاني للعام الدراسي ١٤٢٧/١٤٢٨هـ، المعقود بتاريخ ١٤٢٧/٩/٨هـ الموافق ٢٠٠٦/١٠/١م



النشر العلمي والمطابع ١٤٢٨هـ

مقدمة الطبعة الثانية

بسم الله الرحمن الرحيم ، والحمد لله وحده ، والصلاة والسلام على من لا نبي بعده . وبعد :

هذا الكتاب " علم الفيروسات " استهدف تحديث علم الفيروسات باعتباره من أهم العلوم الأحيائية والطبية ولما للفيروسات من أثر واضح متعاظم في حياة الإنسان والحيوان والنبات وسائر الكائنات الحية جميعاً والتي هي عرضة للإصابة بفيروس أو أكثر مما قد يؤثر في الحياة أو يسبب أمراضاً خطيرة وقاتلة . ولقد تعاظم دور الفيروسات ، ليس فقط لإحداثها لأمراض معروفة بوبائياتها التي تسري كالنار في الهشيم . ولكن لأن معدلات وفياتها في تزايد ، مما استوجب ، مع ما يظهر من أمراض فيروسية غامضة وجديدة أو معاودة للظهور ، أن تزداد معرفتنا العلمية بطرق دراستها وتوصيفها وعزلها وزراعتها ومن ثم دراسة إستراتيجياتها للإمراضية وإحداث المرض .

وقد اهتم هذا الكتاب بعنايته بكثير من العلوم الأخرى ذات العلاقة الوثيقة بالفيروسات مثل الكيمياء ، والكيمياء الحيوية ، وعلوم الأمراض والنبات والحيوان والحشرات وكذلك أيضاً علوم الوراثة والوراثة الجزيئية والأحياء الجزيئية حيث لعبت دراسة الفيروسات محوراً تبادلياً للتقدم العلمي المتزامن .

وإذا كان التركيز في هذا الكتاب على أساسيات وعموميات علم الفيروسات اللازمة لدراسة فروع هذا العلم الطبية والبيطرية والزراعية والتقنية الحيوية إلا أنها تتضمن أيضا شمولا لهذه التخصصات مما يزيد من فائدتها . كما اشتمل الكتاب على التقنيات الحديثة في هذا المجال وخاصة مجالات الزراعة والتوصيف والتشخيص المعملي ، فضلا عن إضافة موضوعات هامة بالنسبة لعلاقة الفيروسات بالمناعة والوقاية باللقاحات وأيضا العلاج بالمضادات الفيروسية التي تعتبر من أهم ما يسعى إليه العلماء والباحثون حتى يمكن منع الأمراض الفيروسية ومكافحتها أو تقليل وبائياتها وتأثيراتها القاتلة .

وكان من أبرز الموضوعات التي شملها هذا الكتاب إعطاء فكرة واضحة عن الفيروسات والسرطان وفيروسات البكتيريا ، والبكتيريا الزرقاء ، والطحالب ، وفيروسات الأسماك ، وفيروسات الحشرات مما يحفز الكثير من رواد هذه التخصصات للمشاركة الفعالة في التقدم العلمي والبحثي والتقني في هذه المجالات المتداخلة .

والعلم هو تاريخ وتاريخ علم الفيروسات يضيء الكثير من الإلهام والحوافز . ولقد تم استعراض الجدل عن ماهو الفيروس وكيفية وجوده بين سائر ممالك الكائنات الحية .

ويسرني أن أرحب بملاحظات الزملاء والقراء الأعزاء بحيث تؤخذ بعين الاعتبار والتقدير في الطبعة التالية إن شاء الله تعالى .

المؤلف

مقدمة

يسرني أن أقدم لطلابي وزملائي هذا الكتاب بوصفه مقررًا يغطي مادة علم الفيروسات في ضوء الخطة الموضوعة لدراسته.

ولقد حاولت جهدي تجديد المعلومات وملاحقة ما يستجد في هذا العلم الحديث المتجدد دائمًا.. ففي كل يوم، تطالعنا أبحاث جديدة وفيروسات لم يكن لها وجود من قبل علاوة على مستجدات الأحياء الجزيئية للفيروسات والهندسة الوراثية واستخدام الفيروسات ناقلات لعلاج أمراض الإنسان والحيوان والنبات.

ولسوف يشهد المستقبل القريب أبحاثًا مهمة في هذا العلم والتي بدأت باستئصال فيروس الجدري ومازالت الجهود تتكثف الآن - من أجل مكافحة فيروس مرض الأيدز والفيروسات التي تدمر المحاصيل الزراعية وتلك التي تهدد الثروة الحيوانية.

إن هذا الكتاب إذ أقدم فيه الجهد والضوء لآمل أن يكون دافعًا لمزيد من القراءة والاطلاع.

والله أسأل أن يوفقنا لما فيه خير الأمة.

المؤلف

المحتويات

الفصل الأول

تاريخ الفيروسات

History of Viruses

إن تتابع الأحداث والاكتشافات التي أدت إلى تأسيس علم الفيروسات Virology علمًا مستقلاً بذاته تعدُّ ذات أهمية بالغة، وهذه الأحداث هي:

١ - إن أول السجلات عن الأمراض الفيروسية موجودة على جدران أحد معابد مصر القديمة منذ ٣٠٠٠ سنة قبل الميلاد، وتمثل لوحة محفورة على الصخور الجرانيتية تبين حشدًا من المصريين بينهم كاهن كانت إحدى قدميه صغيرة ومنحنية وقصيرة مما يدل على أن هذا الكاهن كان مصابًا بمرض شلل الأطفال Poliomyelitis. والدليل الآخر جاء من مومياء الملك رمسيس الخامس التي لاتزال محفوظة بالمتحف المصري، ويبين وجه الملك رمسيس الخامس وبه ندبات سوداء Dark scars مما يعني أن الملك قد عانى من مرض الجدري Smallpox، وربما يكون قد مات من هذا المرض. كانت هذه هي أولى الوثائق التي بينت إلى أي مدى كانت الفيروسات عميقة في التاريخ.

٢ - أما الدليل الثاني فقد جاء من ممارسة الفارسيين والصينيين والمصريين القدماء لعملية التطعيم Vaccination، إذ كانوا يطعّمون أفرادهم ويحصنونهم عن طريق خدش Scratching الجلد وخربشته بمادة يتحصلون عليها من بثرات جدري البقر Cowpox pustules.

٣ - وصف الإغريق القدماء مرض النكاف "أبو لغد" Mumps.

٤ - أثناء العصور الوسطى، أثرت الموجات الوبائية لفيروس الحمى الصفراء Yellow fever virus على تجارة الرقيق وكذلك على أمم كثيرة، إذ كانت تهاجم الحمى الصفراء العبيد على ظهر السفن أو في مناطق الاستيطان الجديدة مؤدية إلى حدوث وفيات هائلة.

٥ - أما أول وصف علمي مدون عن الفيروسات فيرجع تاريخه إلى عام ١٥٧٦م عندما كتب كارولاس كلوزياس Carolus Clusius الهولندي عن تبرقش Variegation الغلاف الزهري لأزهار التيوليب Tulip، وهو، أيضًا، كسر اللون (Colour break)، ويسببه فيروس ينتقل بوساطة المن Aphid. وقد اقترح العلماء سنة ١٦٧٠م أن كسر اللون في التوليب قد يكون نتيجة مرض.

٦ - أعقب ذلك مباشرة نشر بحث عن مرض الشحوب اليخضوري المعدي Infectious chlorosis في نبات الياسمين والذي نشر في مجلة فن البساتين.

٧ - في حوالي عام ١٧٢٠م، اكتشف مزارعو البطاطس تدهورًا Degeneration في المحصول بسبب الاستمرار في إكثاره خضريًا عامًا بعد آخر، إلا أنهم لاحظوا، أيضًا، أن زراعة هذا المحصول على قمم الجبال أو قريبًا من البحر قد أنقذ المحصول ولم يدركوا أن سبب ذلك المرض هو فيروس يؤدي إلى مرض التفاف الورقة في البطاطس Potato leaf roll ولم يدركوا أن هذا النجاح إنما يرجع لإبعاد البطاطس عن الذبابة البيضاء White flies التي تنقل الفيروس.

٨ - في عام ١٧٩٦م، أعاد إدوارد جينر Edward Jenner الطبيب الإنجليزي اكتشاف طريقة تطعيم ضد الجدري Smallpox باستخدام مادة من جدري البقر Cowpox والتي يرجع الفضل فيها لزوجة حاكم الهند الإنجليزي التي نقلت هذه الطريقة عن عاصمة الإمبراطورية العثمانية في القسطنطينية والتي توارثت عن الحضارات المصرية والفارسية القديمة.

٩ - في عام ١٨٦٥م، ظهر لويس باستير Louis Pasteur الفرنسي وهو يشارك روبرت كوخ الألماني Robert Koch ١٨٧٦م في تأسيس النظرية الميكروبية Germ theory،

إذ لم يكن أي شيء معروفًا عن الميكروبات حتى ذلك الوقت، كذلك يرجع الفضل إلى لويس باستير الكيميائي في اكتشاف طعم أو لقاح Vaccine ضد السعار Rabies وهو داء الكلب، وذلك باستخدام أمخاخ الكلاب المسعورة Rabid dogs وتمرير مستخلصها عدة مرات في مخ الأرانب فيؤدي إلى إضعاف Attenuation الفيروس، ومن ثم، فإنه يعطي المناعة عند حقنه في الناس الذين عضهم كلب مسعور.

١٠- وفي عام ١٨٦٨م، ظهر في أوربا نبات أبوتيلون Abutilon المبرقش وكان مفضلاً كنبات زينة، ويمكن إحداث التبرقش في النباتات السليمة عن طريق عملية تطعيم Grafting من نبات مبرقش إلى نبات غير مبرقش فتتحول كل فروع الأخير إلى التبرقش.

١١- في عام ١٨٨٦م، استطاع أدولف ماير Adolf Mayer الهولندي نقل مرض تبرقش التبغ Tobacco mosaic إلى نباتات سليمة، وكان هذا التبرقش من النوع الخفيف ذي التباين الباهت في ألوان البقع أي مايسمى Mottling (التزركش)، وكان أهم ما اكتشفه ماير أن هذا المرض يمكن نقله من النباتات المريضة إلى السليمة عن طريق الحقن Inoculation الميكانيكي باليد بعد مسح عصير النبات المصاب على سطح أوراق النبات السليم، وعندما رشح عصير النبات المصاب ترشيحًا عاليًا Ultrafiltered خلال مرشح تشمبرلين العالي Chamberland's Ultrafilter، ثم مسح الراشح Ultrafilterate على أوراق النباتات السليمة ظهر مرض التبرقش عليها؛ ولكن ماير فشل في اكتشاف وجود أية بكتيريا مسببة لهذا المرض.

١٢- عقب ذلك، جاء ديمتري إيفانوفسكي Dimetry Evanowski عام ١٨٩٢م وقدم أول دليل على وجود الفيروس وذلك بأبحاثه على مرض تبرقش التبغ الذي سبق أن وصفه ماير، فأثبت أن العصير المأخوذ من نباتات مريضة يكون قادرًا على إحداث المرض عند حقنه في نباتات سليمة بعد أن يكون مر من خلال مرشح بكتيري عال، وللأسف، لم يستطع إيفانوفسكي فهم المعنى الحقيقي لهذا الاكتشاف إلى أن جاء بيجيرنك.

١٣- قام بيجيرنك Bejerink الهولندي عام ١٨٩٨-١٨٩٩م بإعادة تجارب إيفانوفسكي فتحقق من نتائج الأخير وقام بعمل راشح عالٍ من عصير أوراق التبغ المصابة بالتبرقش ثم وضع هذا الراشح على كتل صغيرة من الآجار المتصلب وأزال من هذه القطع الجزء العلوي وحقن الجزء السفلي في نباتات سليمة فظهر بها المرض، وقام بيجيرنك بتسمية مسبب المرض بالسائل الحي المعدي Vivum fluidum contagiosum.

١٤- في عام ١٨٦٦م، قام العالم الروسي جامالي Gamale بأخذ عينة من دم ماشية مريضة بالطاعون البقري Cattle Plague ثم رشحها في مرشحات تقوم بحجز البكتيريا وحقن الراشح في ماشية سليمة فوجد أنها أصيبت بالطاعون مما يدل على أن العامل المسبب للمرض ليس بكتيريا وأنه أصغر منها في الحجم. وسريعًا ما أمكن التعرف على كثير من أمراض الحيوان والإنسان المشابهة لتبرقش التبغ من حيث طبيعة العامل المسبب، وقد كانت هذه العوامل تسبب أعراضًا مرضية لعائلها، كما أنها كانت تمر من المرشحات العالية ولا تنمو على المنابت البكتيرية Bacteriological media؛ ولا يمكن رؤيتها Invisible بالمجهر الضوئي. وقياسًا على هذه الأدلة، تمكن لوفلر Loeffler وفروسك Frosch عام ١٨٩٨/١٨٩٩م، من إثبات أن مرض الحمى القلاعية Footand Mouth Disease (FMD) الذي يصيب الماشية في الفم والأقدام يمكن نقله إلى الحيوانات السليمة بمادة مستخلصة من ماشية مصابة بعد تشريحها خلال مرشح بكتيري، وأطلقا عليها العوامل عالية الترشيح Ultrafiltrable Agents.

في هذه الأثناء، ارتفعت آراء علمية تفسر ظاهرة سبب إحداث أمرض من العوامل عالية الترشيح والتي لم يثبت وجود أصل ميكروبي لها فسميت هذه العوامل الممرضة فيروسات Viruses، وتعني هذه الكلمة باللاتينية سموم Poisons لاعتقادهم أنها ليست كائنات مثل البكتيريا وأنها أصغر وتشبه السموم.

١٥- استطاع والتر ريد Walter Reed الطبيب الإنجليزي، عام ١٩٠١م من إثبات أن مرض الحمى الصفراء Yellow fever إنما يسببه عامل عالي الترشيح، كما أنه برهن على أن البعوض يقوم بنقل هذا العامل من المريض إلى السليم وأجرى هذه التجربة على نفسه فانتقل إليه المرض.

١٦- قام نيجري Negri بإثبات أن مرض السعار Rabies إنما يسببه عامل عالي الترشيح كما أنه وصف أجسامًا شبه بلورية في سيتوبلازم الخلايا العصبية للكلاب المسعورة سميت أجسامًا محتواة Inclusion bodies، وقد ساعد هذا الاكتشاف في تشخيص كثير من الأمراض الفيروسية حتى إنه ظل مفهومًا لمدة طويلة أن كل الفيروسات تسبب ظهور هذه الأجسام المحتواة في نواة أو سيتوبلازم الخلايا المصابة.

١٧- يُعدُّ لاند شتاينر Landsteiner وبوبر Popper هما أول من أثبتا في عام ١٩٠٩-١٩١٠م أن مرض شلل الأطفال Poliomyelitis يسببه عامل عالي الترشيح.

١٨- جاء أول إثبات على أن الفيروسات تسبب السرطان عندما قام بيتون راوس Pyton Rous الحاصل على جائزة نوبل بإثبات وجود سرطان في الدجاج Fowl، وأمكن نقل هذا السرطان عن طريق حقن الراشح العالي لأنسجة مصابة في دجاج سليم فأظهر سرطانات، وقد سمي هذا الفيروس فيروس سرطان ساركومة راوس Rous sarcoma virus. وقد فتح هذا المجال واسعًا أمام العلماء للبحث عن فيروسات تسبب سرطانات في الإنسان والحيوان والنبات. وكان قد سبق راوس عالم آخر هو بول إرليش Paul Erlich عام ١٩٠٧م، إذ استطاع الحصول على سرطانات تلقائية Spontaneous من سرطان الثدي في إناث الفئران.

١٩- في عام ١٩١٥م، حاول الطبيب الإنجليزي Towrt زراعة القيح Pus الناتج عن بثرات Pustules مريض بفيروس الجدري smallpox وحقن عينة منه على طبق آجار مغذٍ وكانت الدهشة شديدة عندما لم ينم فيروس الجدري، وإنما ظهرت البكتيريا العنقودية *Staphylococcus*. لكن تورت لاحظ أن فرشة نمو البكتيريا ممزقة بوجود ما يشبه الثقوب،

وعندما نقل منها على طبق آجار جديد، ظهر الطبق مفروشًا بالبكتيريا، ومن خلالها لوحظ عدد أكبر من الثقوب أو المناطق الرائقة الخالية من النمو البكتيري أي أن هناك شيئًا ما قد أكل البكتيريا في هذه المواضع المحددة.

أما فيليكس ديريل Felix D'herelle وهو طبيب فرنسي درس الطب بفرنسا ومدرسة طب القصر العيني بالقاهرة، فقد قام بزراعة البكتيريا العصوية المسببة للدوسنتاريا *Bacillus dysentrae* ولكنه لاحظ في النمو البكتيري وجود هذه المناطق الرائقة وعندما نقل منها كثرت هذه المناطق التي لا يوجد بها بكتيريا. وقد سمى هذه العوامل عالية الترشيح آكلات أو لاقمات البكتيريا Bacteriophages. وقد كان لظهور هذه الأماكن الرائقة والتي تسمى روائق Plaques في خلال حصيرة البكتيريا النامية أهمية كبيرة في تقنين الفيروسات ومعايرتها وعدِّها، كما أثبتت فيروسات البكتيريا أهمية كبيرة في تقدم علم الفيروسات.

ولقد توقفت الأبحاث والدراسات في مجال هذا العلم وتأخر تأسيسه وظلت دراسات الفيروسات على شكل متفرق وقاصرة على دراسة الأمراض التي تحدثها، وترجع أسباب ذلك إلى:

١ - عدم القدرة على رؤية أو فحص الفيروسات مجهريًّا.

٢ - تأخر اكتشاف المزارع النسيجية Tissue cultures المناسبة لإكثار فيروسات الحيوان والنبات.

٣ - قصور الطرق وأجهزة التحليل الكيميائي والفيزيائي.

٤ - الحاجة إلى أدوات وأجهزة لتنقية الفيروسات.

٢٠ - في عام ١٩٢٣م، اكتشفت آلات الطرد المركزي العالية Ultra centrifuges ومن ثم، تمكن شليزنجر Schlesinger من عزل وتنقية بكتيريوفاج سمي WII يصيب البكتيريا العصوية القولونية إيشيرشيا كولاي *Eschirichia coli*. وعندما حلل الفيروس وجد أنه يحتوي على البروتين وحامض الفوسفوريك، كما اقترح شليزنجر وجود حامض نوويNucleic acid في هذه الدقائق وقد تبين، أيضًا، أن هذه الفيروسات عبارة عن:

أ - دقائق Particulated.

ب- جزيئات بسيطة كيموحيوية.

٢١- يرجع الفضل إلى وندل ميريديث ستانلي Wendell Merdedith Stanley الأمريكي وكلّ من بودن Bawden وبيري Pirie إلى النجاح في استخدام طرق تنقية purification فيروس تبرقش التبغ Tobacco mosaic virus (TMV). وقد تمكن ستنالي من تنقية فيروس تبرقش التبغ بصورة عالية حصل منها على بلّورات Crystals ، وعندما أذاب هذه البلّورات في محلول منظم (Buffer) وحقن منها نباتات تبغ سليمة ، ظهرت عليها أعراض التبرقش ، كما أن هذه البلّورات كانت تتأثر بإنزيمات محللة البروتين Proteases ، مما يدل على أنها تحتوي على البروتين كأحد مكوناتها.

٢٢- في أعوام ١٩٣٥م و ١٩٣٨م ، استطاع كل من بودن وبيري بإنجلترا (حاصلان على جائزة نوبل) التوصل إلى أن فيروس تبرقش التبغ يتكون كيميائيًّا من البروتين والحامض الريبوزي ح ن ر (رنا) RNA.

٢٣- في عام ١٩٣٩م ، استطاع دلبروك Delbruck اكتشاف وجود طفرات Mutations في الفيروسات البكتيرية "بكتريوفاج".

٢٤- منذ عام ١٩٤٠م ، وبعد اكتشاف المجهر الإلكتروني Electron microscope "E.M." ، تمكن كل من رسكا Ruska وبرتون Burton وهيلير Hillier ووليامز Williams ووايكوف Wyckoff وهورن Horne وأندرسون Anderson من فحص الفيروسات بالمجهر الإلكتروني ، وكانت الدهشة شديدة عندما اتضح أن لكل فيروس شكلاً وتركيبًا وحجمًا وأبعادًا ثابتة ومميزة وأصبحت رؤية ذلك واضحة من خلال شاشة المجهر الإلكتروني. ومن ثم ، فلم تعد الفيروسات فوق قدرة المجهر Ultramicroscopic ، كما هو الحال بالنسبة للمجاهر الضوئية.

٢٥- استطاع برنال Bernal وفانكوش Vankouch عام ١٩٤١م استخدام أشعة إكس X-Rays ونظام التشتت X-Ray diffraction الذي تحدثه عندما تصطدم بالجزيئات في

فحص الفيروسات النقية جدًا، وتوصلا إلى أن هناك درجة عالية من النظام في ترتيب وحدات الدقائق الفيروسية إلى درجة تماثلها كلها، ووجود تماثل خاص للدقيقة الفيروسية إنما يرجع إلى ترتيب الوحدات البروتينية على سطوحها.

٢٦- في عام ١٩٤٩م، حدث أول نجاح لزراعة فيروس شلل الأطفال Poliovirus في المزارع النسيجية Tissue cultures، وذلك بوساطة إندرز Enders.

٢٧- اكتشف روبرت سافرمان Safferman وماري - إيلين موريس Morris عام ١٩٦٣م فيروسات تهاجم البكتيريا الزرقاء Cyanobacteria وسميت فاجات البكتيريا الزرقاء Cyanophages.

٢٨- لقد تأكد الدور المهم الذي يؤديه الحامض النووي Nucleic acid وذلك بالتجربة المبتكرة التي أجراها ألفريد هيرشي Alfred Hershy مع زميلته مارثا تشيس Martha Chase عام ١٩٥٢م، وذلك باستخدام النظائر المشعة Radioisotopes، فعندما شعًّعا اللاقم ت٢ (phage T2) الذي يصيب البكتيريا العصوية القولونية وذلك بمادة الكبريت الثقيل S^{35} والذي يدخل في تركيب البروتين، والفوسفور الثقيل P^{32} والذي يدخل في تكوين الحامض النووي، وجد أنه، بعد حقن البكتيريا بالفاج المشعع، بقي الكبريت المشع الموجود في الغطاء وذيل الفاج، خارج الخلية البكتيرية بينما دخلت المادة النووية الموجودة بالفاج والمشععة بالفوسفور وعن طريقها أمكن تتبع أن المادة التي دخلت الخلية وتكاثرت وأعطت فيروسات جديدة إنما هي الحامض النووي الدي أوكسي ريبوزي Deoxy Ribonucleic Acid (ح ن د = DNA دنا)، وبذا تأكد تمامًا أن المادة الوراثية إنما هي الحامض النووي ولا يشاركه فيها البروتين كما كان معتقدًا، إذ إن الكروموزومات في كل الكائنات تحتوي على الحامض النووي مرتبطًا به البروتين.

٢٩- في عام ١٩٥٢م، استطاع لندبرج Lindberg وزندر Zinder إثبات ظاهرة نقل وتوصيل المادة الوراثية Transduction من خلية إلى خلية بكتيرية أخرى عن طريق الفاج.

٣٠- في عام ١٩٥٣م، استطاع كل من واطسن Watson وكريك Crick (حائزا على جائزة نوبل) باستخدام الفيروسات، التوصل إلى وضع نظام Model للمادة الوراثية المكونة من جزيئات ح ن د DNA، ففتحت الفيروسات آفاقًا جديدة للبيولوجيا الجزيئية Molecular Biology وكذا لعلم الوراثة Genetics في كل الكائنات.

٣١- في عام ١٩٥٦م، استطاع فرينكل كونرات Fraenkel-Conrat بجامعة كاليفورنيا بيركلي الحصول على فيروس تبرقش التبغ TMV في صورة نقية وقام بتفكيكه إلى مكونيه البروتين والحامض النووي الريبوزي Ribonucleic acid (ح ن ر = RNA رنا) وعندما حقن هذين المكونين كلٌ على حدة على نباتات تبغ سليمة، وجد أن البروتين لم يعط إصابة، بينما نتجت الإصابة من ح ن ر الفيروسي النقي، كذلك استطاع إعادة تكوين دقائق فيروس تبرقش التبغ TMV من مكونيه المنفصلين: البروتين و ح ن ر، عندما تم تجميعهما معًا بالتسخين لمدة ساعة عند درجة حرارة ٣٠° م وفي أس هيدروجيني ٧,٣ (pH7.3) وفي وجود مادة البيروفوسفات. وللدهشة الشديدة، وجد أن الاثنين يتجمعان معًا ليكونا دقائق فيروسية كاملة مطابقة تمامًا للفيروسات الأصلية. وعلاوة على أن هذه التجارب قد أثبتت أن المادة الوراثية في فيروس تبرقش التبغ إنما هي ح ن ر، إلا أنها أثبتت ظاهرة مهمة جدًا في علم الفسيولوجيا، وهي قدرة الفيروس على التجميع الذاتي Self assembly من مكوناته، وهي صفة فريدة لا يشاركه فيها أي من الكائنات الأخرى.

٣٢- في عام ١٩٥٧م، تمكن كل من إسحاق Isaacs وليندغان Lindenmman من اكتشاف الإنترفيرون interferon وهو مادة طبيعية ضد الفيروسات وتقضي عليها أثناء المرض.

٣٣- استطاع سابين Sabin وسولك Salk عام ١٩٥٧م من إنتاج لقاحين ضد شلل الأطفال. الأول يؤخذ بالفم والثاني بالحقن.

٣٤- اكتشف سينشيمر Robert Sensheimer عام ١٩٥٩م فاج فاي إكس ١٧٤ (ϕ X-174) في البكتيريا العصوية القولونية وهو يحتوي على مادة وراثية من ح ن د مفرد الخيط دائري Single-stranded circular DNA.

٣٥- ما بين ١٩٦٠-١٩٦٥م، نشطت الأبحاث بغية التوصل إلى مواد أو عقاقير مثبطة Inactivators لتكاثر الفيروسات داخل الخلية المصابة في محاولة لإيجاد علاج كيميائي Chemotherapy للأمراض الفيروسية (تام Tamm وكوفمان Kaufman وجوكلك Joklik).

٣٦- بين أعوام ١٩٦٦-١٩٦٩م، صاغ لوف Lowff وهورن Horne وتورنيير Tournier نظامًا موحدًا! لفيروسات النبات والحيوان والحشرات والبكتيريا والإنسان، حيث إنها جميعًا - تربطها صفات أساسية ثابتة وموحدة.

٣٧- ما بين أعوام ١٩٦٧-١٩٧٢م، حاول كورنبرج Kornberg وغيره تخليق فيروسي TMV وفاج ϕX-174.

٣٨- اكتشف ميريل Merril وآخرون عام ١٩٧١م إمكانية نقل Transduction المادة الوراثية إلى مزارع الخلايا الليفية Fibroblasts للإنسان.

٣٩- في عام ١٩٧٣م، تمكن شودولوريسكي Schodoloriski وأحمد من اكتشاف فيروس يسبب سرطانًا في القرود.

٤٠- استطاع سابين Sabin وتام Tam إثبات أن فيروس القوباء البسيط - هيربيس سيمبلكس Herpes simplex يسبب سرطانًا للإنسان وذلك عامي ١٩٧٣-١٩٧٤م.

٤١- بحلول ١٩٧٦م، ١٩٧٧م، استطاعت منظمة الصحة العالمية .W.H.O ولأول مرة في التاريخ، استئصال شأفة فيروس الجدري Smallpox من كل أنحاء العالم من خلال برنامج تحصين Vaccination عالمي متزامن وفعال.

٤٢- عام ١٩٧٦م وما يليه، استخدمت الفيروسات أدواتٍ أساسية في الهندسة الوراثية Genetic engineering وتقنية معاودة ارتباط ح ن د DNA recombinant technology.

٤٣- عام ١٩٨١م اكتشف روبرت جاللو Robert Gallo ورفاقه بمعهد الصحة القومي الأمريكي NIH فيروسين يصيبان الخلايا الليمفاوية التائية T-lymphocytes في

الإنسان وسمياهما فيروس الخلايا الليمفاوية البشري رقم -١ وفيروس الخلايا الليمفاوية البشري رقم -٢ ، HTLV-1 & HTLV-2. وفي عام ١٩٨١م، استشرى وباء الأيدز AIDS في العالم. وفي شهر يناير ١٩٨٣م، تمكن لوك مونتانييه Luc Montagnier في معهد باستير بفرنسا من اكتشاف الفيروس المسبب للمرض فسماه Lympoadenopathy virus (LAV) ؛ لأنه يسبب تضخمًا وأعراضًا مرضية في الغدد الليمفاوية، على حين اكتشف روبرت جاللو الأمريكي في ديسمبر من نفس العام ١٩٨٣م الفيروس المسبب للأيدز وسماه فيروس خلايا الليمفاوية البشري رقم -٣، (HTLV-3) أي أنه تابع لسلسلة فيروس ت١ ، ت٢.

٤٤- عزل الفيروس الذي يسبب مرض الأيدز كفيروس عكسي بشري يتبع تحت عائلة لينتيفريني من عائلة رتروفيريدي والذي يرتبط بمرض نقص المناعة المكتسبة في الإنسان بوساطة باريه - سينوسي وروبرت جاللو وغيرهما. وقد سمي الفيروس HIV أي فيروس نقص المناعة البشري.

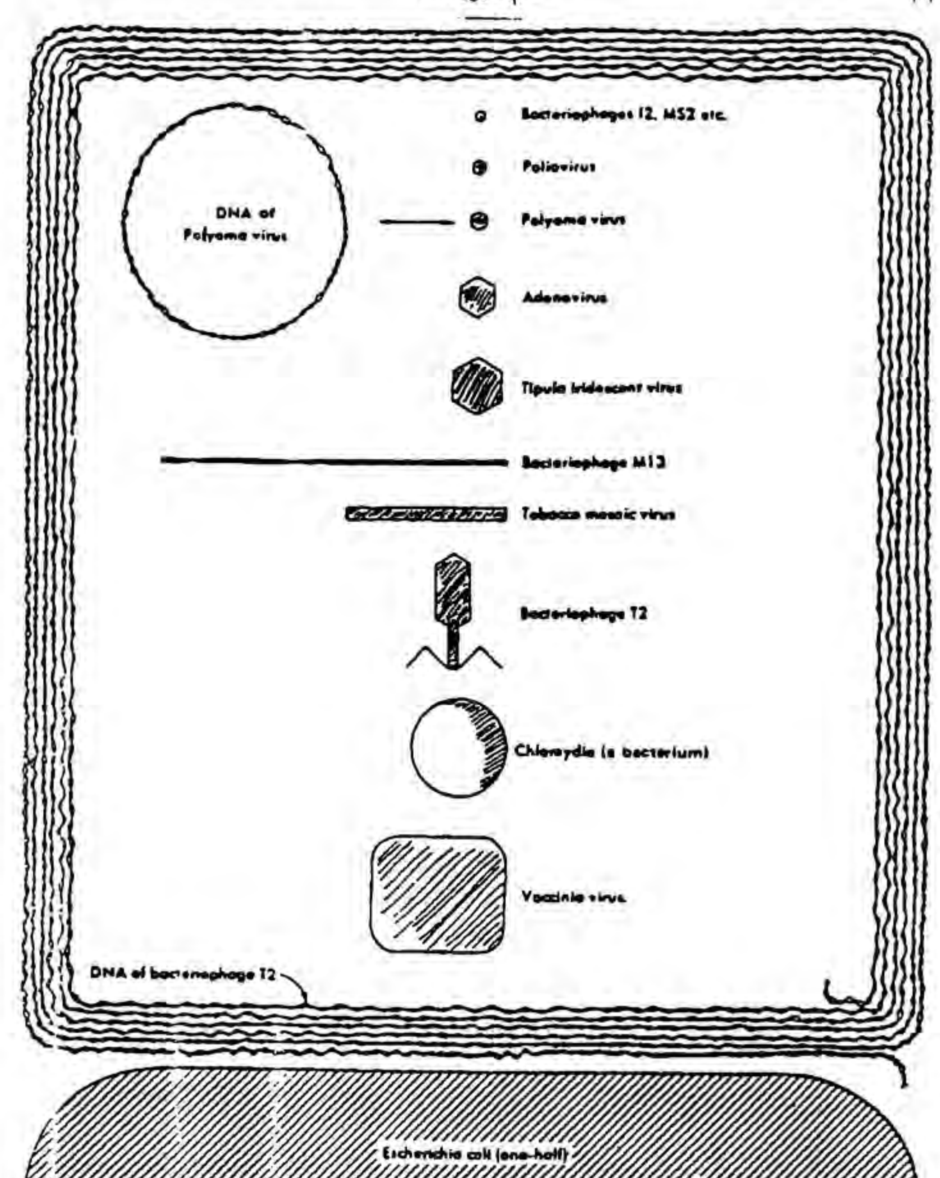
٤٥- اكتشاف أن الالتهاب الكبدي "د" إنما يشبه في تركيبه الفيرويد (Wang *et al.*) في عام ١٩٨٦م.

٤٦- في عام ١٩٨٦م، أيضًا، تمكن (Poweil *et al.*) من استخدام النباتات المزودة بحامض نووي Transgenic plants لاكتساب النباتات مقاومة ضد الفيروسات مثل فيروس تبرقش التبغ TMV.

٤٧- في عام ١٩٨٩م، تمكن شو وزملاؤه من التعرف لأول مرة على فيروس الالتهاب الكبدي "ج" وذلك بوساطة تقنيات جزيئية.

٤٨- استطاع (Molla *et al.*) عام ١٩٩١م من تصنيع دقائق فيروسية كاملة حية ومعدية لفيروس شلل الأطفال.

٤٩- في مايو عام ١٩٩٥م، ضرب وباء فيروس إيبولا Ebola virus منطقة كيكويت بزائير (الكونغو) وسبب الحمى النزفية الدموية القاتلة وكان هذا لثاني مرة بعد ظهوره الغامض عام ١٩٧٦م في زائير وجنوب السودان.



الشكل رقم (١). الحجم المقارن وبعض أشكال الفيروسات ومادتها الوراثية مقارنة ببكتيريا الكلاميديا والبكتيريا العصوية القولونية *Escherichia coli* (نصف الحجم). لاحظ أن الأشكال وكذلك طول جزيئات ح ن د DNA بمقياس رسم واحد (عن ديفيز وآخرين، ١٩٧٣م).

الفصل الثاني

طبيعة الفيروسات
The Nature of Viruses

تُعدُّ الفيروسات مجموعة من الأحياء الدقيقة الحية والتي تختلف اختلافًا كبيرًا عن سائر الكائنات الحية الأخرى، بما فيها باقي الأحياء الدقيقة. وفي نظم التقسيم الحديثة، وضعت الفيروسات في مملكة مستقلة بذاتها تسمى مملكة الفيروسات Kingdom Viratae . وتبعًا لذلك، فإن الفيروسات لا تتبع تقسيميا عالم النبات أو عالم الحيوان.

وتوجد الفيروسات، شائعة جدًّا، في كل البيئات في كل مكان مؤثرة على الإنسان والنبات والبكتيريا والأوليات والحشرات والحيوانات، وكلما وجدت الفيروسات، فإنها تسبب أمراضًا للعائل Host، أو العوائل التي تصيبها.

(٢,١) الصفات العامة للفيروسات General Properties of Viruses

بناءً على الصفات العامة للفيروسات، يمكن تحديد طبيعة الفيروس، ما الفيروس وماكنهه؟.

لذا فإن الصفات العامة تعطي جوابًا عن هذه الطبيعة الخاصة بالفيروس، وهي تتلخص فيما يلي:

١ - أنها صغيرة الحجم Minute in size، فقطرها يتراوح ما بين ١٠ - ٣٥٠ نانومترًا.

٢ - قابلة للترشيح في المرشحات العالية Ultrafiltrable (عالية الترشيح).

٣ - فوق قدرة المجهر الضوئي Ultramicroscopic؛ لأنها صغيرة الحجم فإنها لا يمكن أن تفحص أو ترى بالمجهر الضوئي ولكن يلزم المجهر الإلكتروني لفحصها.

٤ - متطفلة إجبارية داخلة خلوية Obligate intracellular parasites.

٥ - ممرضة Pathogenic فكلها تسبب أمراضًا Diseases للعوائل التي تصيبها Infect.

٦ - بسيطة في تركيبها، إنها أبسط كائن لا خلوي دقيق، أبسط من عضيات الخلية من البلاستيدات أو المقتدرات (الميتوكوندريا).

٧ - يتكون الفيروس، أساسًا، من مورث (مجين) Genome من نوع واحد من الحامض النووي Nucleic acid، إما من ح ن د DNA (دنا)، وإما ح ن ر RNA (رنا) (لا يوجد الاثنان معًا)، ومن علبة Capsid أو محفظة أو قشرة Shell من البروتين Protein. وبعض الفيروسات قد تتكون، علاوة على ذلك، من غلاف من الدهون lipids أو الكربوهيدرات Carbohydrates، وربما تمتلك واحدًا أو أكثر من الإنزيمات Enzymes.

٨ - أن المكون الرئيسي للفيروس هو الحامض النووي الذي يعرف بالمورث Genome (وهو كل المادة الوراثية). وإما أن يكون جزيء المورث الفيروسي ح ن د، وإما ح ن ر، سواء مفردًا أو مزدوج الخيط Single or double stranded. وتسكن المادة الوراثية الفيروسية عادة في داخل دقيقة (حجرة) واحدة لكن في بعض الأحيان يمكن أن يتكون المورث من أكثر من جزيء في دقيقة واحدة، أو أن يكون موزعًا بين عدة دقائق كما هو الحال بالنسبة للفيروسات متعددة الدقائق Multiparticle Viruses.

٩ - أن البروتين الفيروسي هو المكون الأساسي الثاني وهو يكون الغطاء أو العلبة.

١٠ - يعدُّ الفيروس خاملاً أيضيًا Metabolically inert؛ لأنه لا يمتلك أصولاً أو مواد خام Precursors ولا مصادر طاقة ولا إنزيمات التأكسد والاختزال، وهي ما تسمى نظام ليبمان Lippman's لإنتاج الطاقة بوساطة الإنزيمات المؤكسدة المختزلة. كما أنه لا يحتوي على نظم الآلات Machinery systems اللازمة لتكوين الجزيئات الكبيرة Macromolecules.

بناء عليه: فإن الفيروس يجب أن يظل هادئًا ساكنًا عندما يكون خارج الخلية لكنه لا ينشط إلا عندما يدخل الخلية العائلة التي يتوفر له فيها كل الاحتياجات التي

تنقصه واللازمة لعملياته الحيوية وتكاثره. لذا يسمى الفيروس الخامل خارج الخلية دقيقة فيروسية Virus particle. أما عندما تُحدث هذه الدقيقة إصابة وتدخل الخلية، فإنها تسمى فيروسًا حيًا أو فيريون Virion.

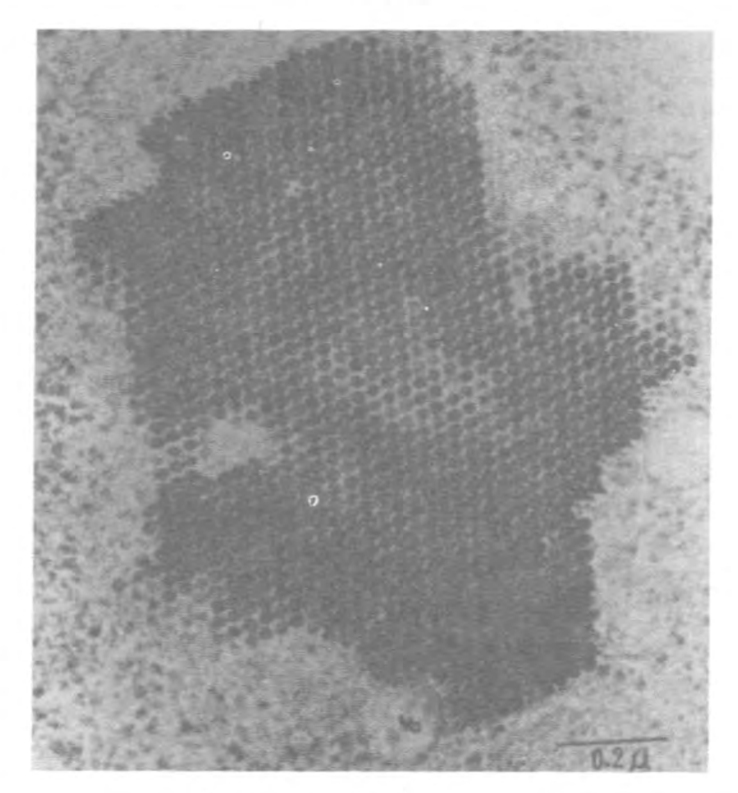
١١- توجه المادة الوراثية الفيروسية تكاثر Replication الفيروس داخل الخلية التي يصيبها. ولو أن المادة الوراثية الفيروسية تحتوي على عدد محدود جدًا من المورثات Genes (جينات)، إلا أنها كافية لبرمجة Programming الخلية العائلة لتخلق كميات كافية من الجزيئات الكبيرة اللازمة لتكاثر الفيروس ولتكوين خلفة Progeny الفيروس (أي الفيريونات)، لذا فإن الفيروسات تستولي Take over على إنزيمات الخلية والأصول الموجودة بها ومصادر الطاقة ونظم الآلات اللازمة لتخليقه هو وتكاثره هو بوساطة المادة الوراثية الفيروسية وتوجيهها ومعلوماتها.

١٢- تُعد الفيروسات ثابتة هندسيًا Geometrically fixed وتركيبيًا كذلك من حيث الحجم والشكل الظاهري، كما أن الفيروسات لا تتغير ولا تنمو بعكس كل الكائنات الحية الأخرى.

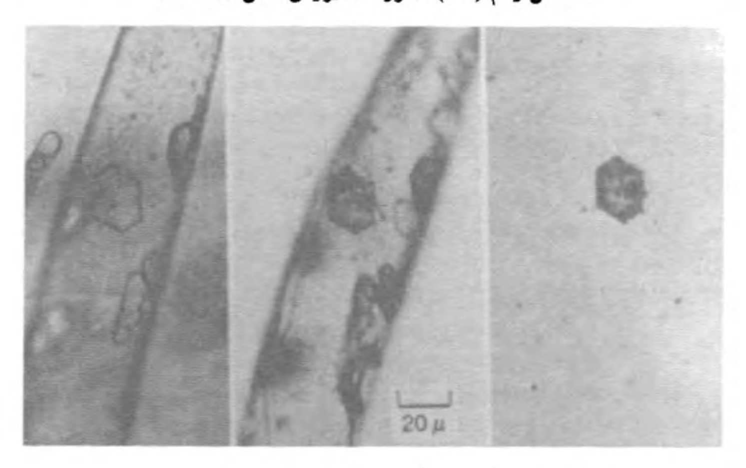
١٣- يكمل الفيروس دورة حياته (Life cycle) كلها ويتكاثر، فقط، داخل الخلية العائلة.

١٤- يمكن زراعة Cultivated الفيروسات وإكثارها Propagated في الخلايا الحية لعوائلها، ولا يمكن أن تنمى أو تكثر في أية أوساط أو منابت صناعية بكتريولوجية مثل البكتيريا والفطريات. ومع ذلك، فإنه يمكن إكثار الفيروسات بحقنها في العائل الذي تصيبه أو في أجنة الدجاج Chick embryo أو مزارع الأعضاء Organ cultures أو مزرعة خلوية Cell cultures.

١٥- تتكاثر الفيروسات داخل العائل الذي تصيبه لتنتج وحدات تكاثرية تكرارية Replica هي الفيريونات، وعندئذ يطلق على هذه الإصابة اسم الإصابة المنتجة Reproductive infection أو أن تظل في حالة حمل Carrier state أو حالة كمون Latent state، فتسمى بالإصابة غير المنتجة Non-reproductive. وفي أحيان أخرى، فإن المورث الفيروسي يلتحم ويتكامل Integrated مع أحد كروموزومات الخلية العائلة أو مورثها ليسبب تكوين سرطان Cancer في حالة



الشكل رقم (٢ أ). بلّورات فيروس شلل الأطفال.



الشكل رقم (٢ ب). بلّورات فيروس تبرقش التبغ TMV.

الإنسان والحيوان والنبات أو تكـون ظاهرة تولـد التحلـل Lysogeny (في حالـة البكتيريا) ويمثل المورث الفيروسي المتكامل ما يسمى فيروسًا أوليًا Provirus أو بادئة فيروس.

١٦- تميـل بعـض الفيروسـات عندمـا تتكـاثر داخـل الخلية العائلة أو بعـد تنقيتـها في المعمل (خارج الخلية الحيـة) إلى تكويـن تجميعـات بلّوريـة Crystalline أو شـبه بلّورية Paracrystalline ، وكل بلّورة من هذه تمثل آلاف أو ملايين من الدقـائق الفيروسية (الشكل رقم ٢) إذ، تتضح بلّورات فيروس تبرقش التبـغ وفـيروس شلل الأطفال.

(٢,٢) تعريف الفيروس Definition of the Virus

تعد الصفات العامة السابق ذكرها كافية لإعطاء فكرة عن طبيعة الفيروسات بغض النظر عن العائل أو مجموعة العوائل الـتي تصيبـها. لـذا فإنـه ليـس مـن المناسـب وضع تعريف Definition عن الفـيروس أو مـا الفـيروس في كلمـات أو عبـارات قليلـة موجـزة ومعـبرة وشاملـة ؛ لأن هــذا التعريــف ســوف يكـون قـاصرًا عـن توضيــح طبيعة الفيروس. لكن، فيما يلي بعض التعريفات :

(٢,٢,١) تعريف بودين Bawden ١٩٥٠م:

"الفـيروس كـائن ممـرض Pathogen إجبـاري التطفـل، أقطـاره تقـل عــن ٢٠٠ ميلّيمكرون".

(٢,٢,٢) تعريف لوف Lwoff عام ١٩٥٩م:

الفيروسات وحـدات Entities داخـل خلويـة Intracellular ذات قـدرة ممرضـة Pathogenic وطور معدٍ Infectious phase وهي :

١ - تحتوي على نوع واحد من الحموض النووية.

٢ - تتكاثر في صورة مادتها الوراثية.

٣ - غير قادرة على النمو Growth أو الانقسام الانشطاري (Binary fission).

(٢,٢,٣) تعريف لوريا Lauria ١٩٥٩م:

الفيروسات هي عناصر من المادة الوراثية Genetic material يمكنها أن تحدد Determine في الخلية التي تتكاثر فيها جهاز نوعي خاصّ بها عن طريقه تنتقل إلى الخلايا الأخرى.

ويركز هذا التعريف، بصفة خاصة، على تخصص الفيروسات في انتقالها Transmission من خلية عائلة إلى أخرى غافلاً عن عجزها في الاكتفاء الأيضي.

وبمقارنة ذلك بتعريف لوريا عام ١٩٥٣م، نجد أنه يقول "الفيروسات وحدات Entities تحت مجهرية Submicroscopic قادرة على غزو خلايا حية خاصة والتكاثر بداخلها، فقط".

(٢,٢,٤) تعريف آخر لبودن Bawden عام ١٩٦٤م:

الفيروسات وحدات تحت مجهرية معدية Infectious تتكاثر، فقط، داخل خلايا Intracellularly وأنها ذات قابلية إمراضية Potentially pathognic.

(٢,٢,٥) تعريف لوف Lwoff وتورنيير Tournier عام ١٩٦٦م:

تتميز الفيروسات عن سائر الكائنات الحية بالصفات الخمس التالية:

١ - تحتوي دقائق الفيروس الناضجة على نوع واحد، فقط، من الحامض النووي، إما ح ن د DNA، وإما ح ن ر RNA، بينما تحتوي كل الكائنات الحية الأخرى على النوعين معًا في الخلية نفسها.

٢ - تتكاثر الدقائق الفيروسية بوساطة حامضها النووي، فقط، بينما تنمو الكائنات الأخرى من تكامل مجموع مكوناتها وتتكاثر بالانقسام.

٣ - الدقائق الفيروسية غير قادرة على النمو أو الانقسام الذاتي.

٤ - ينقص الفيروسات المعلومات الوراثية Genetic information اللازمة لتخليق النظم الخلوية الأساسية مثل تلك المسؤولة عن إنتاج الطاقة بكفاءة عالية.

٥ - تستغل الفيروسات ريبوزومات Ribosomes خلايا عائلها.

وبهذا التعريف، أمكن التفريق بين الفيروسات وبعض الكائنات الدقيقة مثل البكتيريا والمايكوبلازما Mycoplasma والركتسيا Rickettsia والكلاميديا Chlamydia.

(٢,٢,٦) تعريف ماثيوز Matthews عام ١٩٧٠م:

يتكون الفيروس من قالب Template أو أكثر من جزيئات الحامض النووي والتي تكون إما ح ن د، وإما ح ن ر، والتي تتميز بالخواص التالية:

١ - قادرة على تنظيم تكاثرها الخاص، وذلك، فقط، في البيئة الخلوية المناسبة وتشمل المكونات الخلوية التي يعتمد عليها تكاثر الفيروس: الريبوزومات و ح ن ر (الناقل (Transfer RNA tRNA) والجهاز المنتج للطاقة، بعض الفيروسات يلزمها وجود فيروس آخر.

٢ - تغلف Encapsidated في دقائق الفيروسات الكاملة المادة الوراثية بغطاء واقٍ Protective coat يتكون من البروتين أو البروتين الدهني Lipoprotein، وإذا تكونت المادة الوراثية من أكثر من جزءين من الحامض النووي، فإن كلاً منهما قد يستغل بدقيقة منفصلة أو تضمهما دقيقة واحدة، ولا يحتوي الفيروس الناضج على أية حموض نووية أخرى غير مادته الوراثية.

٣ - من الممكن للفيروس أن يسبب مرضًا، على الأقل، في عائل واحد، تحت الظروف المناسبة. وبناءً عليه، فإنه، خلافًا لأصغر الكائنات الدقيقة الأخرى وهي الكلاميديا، فإن الفيروسات لا تحتوي على ريبوزومات فعالة أو أية عضيات

خلوية Cellular organellers، إضافة إلى ذلك، تتميز الفيروسات ذات المورث (ح ن ر RNA) بأن كل المعلومات الوراثية تكون مسجلة على ح ن ر مما يجعلها في موضع فريد Unique بالنسبة لكل الكائنات الأخرى، حيث إن المادة الوراثية للأخيرة هي عبارة عن ح ن د، فقط.

كما يمكن ذكر بعض الفروق التي تنطبق على بعض الفيروسات وليس كلها، وهي أن الحامض النووي الذي يُفْصَل نقيًّا عن باقي مكونات الخلية لأنواع معينة من الفيروسات يكون معديًا Infectious تمامًا كما لو كان دقيقة فيروسية كاملة، وهذا يعني، أيضًا، أنه من هذا الحامض النووي، فقط، تتكون دقائق فيروسية كاملة مثال ذلك فيروس تبرقش التبغ TMV وفيروس شلل الأطفال Poliovirus.

وكما سبق في بعض التعريفات، فإن معظم أجناس الفيروسات قد لا تحتوي، أو قد تحتوي على واحد أو أكثر من الإنزيمات التي تتبع قسمًا خاصًّا مثل نيوراميديز Neuraminidase وإنزيمات بلمرة الحموض النووية Nucleic acid polymerases.

ومما تجدر الإشارة إليه، أنه من المستحيل أن يُعرَّف الفيروس تعريفًا إجرائيًّا شاملاً آخذًا في الاعتبار حالة الفيروس خارج الخلية والتي يطلق عليها "دقيقة فيروسية" Virus particle والتي لا تظهر صفات الحياة، وأيضًا، حالة الفيروس وهو داخل الخلية والتي يطلق عليها فيريون Virion، إذ يبدي صفات الحياة. وإلى هنا لايزال مفهوم "لوف" بأن الفيروسات هي الفيروسات. لذا فإننا نميل الآن لموافقة لوكي Loke في كتابة "Human Understanding" بأن التعاريف سوف تستغل لتوضيح أسماء الأشياء كما هي راسخة في أفكارنا، ولكنها سوف تتركها دون كمال يوضح طبيعتها. ولأن الفيروسات ذات طبيعة مستقلة عن تحت مملكتي النبات والحيوان (مملكة حقيقية النواة Eukaryotae) وكذلك مملكة أوليات النواة Prokaryotae، لذا فإنها توضع في مملكة مستقلة هي مملكة الفيروسات Kingdom: Viratae.

(٢,٣) بعض المصطلحات Some terminology

(٢,٣,١) الغطاء Coat = Capsid:

الكابسيد: هو العلبة أو المحفظة أو الصدفة Shell من البروتين الذي يحيط بمورث الحامض النووي للفيروس.

في بعض الأحيان، تنتج أغطية فارغة Empty capsids، إذ تكون نواتج جانبية لدورة الفيروس التكاثرية.

(٢,٣,٢) الغطاء النووي Nucleocapsid "النيوكليوكابسيد":

الغطاء النووي هو مصطلح يعني الغطاء والحامض النووي الفيروسي معًا، خاصة عندما يكون هناك غلاف Envelope خارج الغطاء.

(٢.٣.٣) البروتين النووي Nucleoprotein:

هو ذلك الجزء من الفيروس الذي يضم الحامض النووي الفيروسي مع بعض بروتينات الفيروس الداخلية المرتبطة به والذي يوجد في محور Core الدقيقة الفيروسية.

(٢,٣,٤) الوحدات التركيبية Structural units:

هي وحدات البروتين الأساسية (القوالب) التي يبنى منها الغطاء.

(٢,٣,٥) الوحدات الشكلية Morphological units:

تعرف هذه الوحدة الشكلية (المورفولوجية) بأنها كابسوميرات Capsomers وهي تلك الوحدات الظاهرية التي ترى حول الدقيقة الفيروسية عند فحصها بالمجهر

الإلكتروني. وكل كابسوميرة تمثل تشكيلاً من جزيء عديد الببتيد، وعندما تتجمع الكابسوميرات كلها معًا فإنها تكون الغطاء.

(٢,٣,٦) الفيريون Virion:

هو الدقيقة الفيروسية الكاملة القادرة على إحداث الإصابة Infection (الحية). وقد يكون الفيريون مكونًا من الغطاء والحامض النووي معًا، ويسمى عاريًا Naked أو غير مغلف Non-enveloped، مثل فيروس شلل الأطفال Polio virus وفيروس تبرقش التبغ TMV وفيروس الغدد Adeno virus. أما في الفيروسات الأكثر تعقيدًا، فإن الغطاء النووي "نيوكليوكابسيد"، فيكون محاطًا بغشاء مزدوج الطبقة من البروتين الدهني Lipoprotein ومن ثم، يطلق عليه فيروسًا مغلفًا Enveloped virus، مثل فيروس القوباء Herpes وفيروس الإنفلونزا Influenza وفاج فاي ٦ (ϕ6) الذي يصيب البكتيريا *Pseudomonas phaseolicola* (بكتيريا تسبب مرضًا لنبات الفاصوليا).

(٢,٣,٧) الفيروس الناقص Defective virus:

هو دقيقة فيروسية بها عيب وظيفي خاصة في إحدى مراحل تكاثرها، وذلك لأنه ينقص مادته الوراثية جين أو أكثر أو لعطب فيه. وكثيرًا ما يتداخل Interfers الفيروس الناقص D في تكاثر الفيروس العادي (القياسي S=standard). ومن ثم، يطلق عليها فيروسات ناقصة متداخلة أو ممانعة DI=Defective interfering؛ لأنها تتداخل وتمنع تكاثر الفيروس القياسي الكامل.

(٢,٣,٨) الفيروس الكاذب Pseudo virus:

هو دقيقة تشبه الفيروس تمامًا وتتكون داخل الخلية المصابة بالفيروس أثناء تكاثره. وشكل الفيروس الكاذب وأبعاده وهندسته تشبه تمامًا الفيروس الكامل، لكن غطاء الفيروس الكاذب يحتوي على مادة وراثية خاصة بالخلية، وليس بالفيروس أو

ربما يحتوي على عضيات من الخلية بدلاً من المادة الوراثية. وهذا الفيروس يمكن أن يبدأ في الإصابة ولكنه يفشل في أن يتكاثر لغياب المادة الوراثية الفيروسية.

(٢,٣,٩) الفيروسات عديدة الدقائق Multiparticle viruses:

وفي هذه الفيروسات، نجد أن الوحدة المعدية Infective unit تتكون من ٢-٥ دقائق، وفيها تتكون المادة الوراثية لأي فيروس من عدة جزيئات (٢-٥) كل جزيء منها يسكن Housed في غرفة (دقيقة) مستقلة وكل هذه الدقائق متعددة المحتويات Multicomponent لازمة معًا لتحدث إصابة، أي ينظر إليها على أنها جميعًا فيريون واحد كامل. توجد هذه الأنواع الفيروسية حتى الآن من بين بعض أنواع الفيروسات النباتية، فقط. ومن أمثلتها فيروس تبرقش الخيار Cucumber mosaic virus الذي يتكون من ثلاث دقائق، وفيروس تبرقش البرسيم الحجازي Alfalfa mosaic virus (AMV)، والذي يتكون من ٥ دقائق للفيروس الواحد.

(٢,٣,١٠) الفيروسات المذنبة Satallite viruses:

وهذه أنواع من الفيروسات تكون غير قادرة على التكاثر بمفردها حتى ولو كانت داخل الخلية المتخصصة، ولكنها تتكاثر، فقط، في وجود فيروس آخر (من عائلة أخرى) يقوم بدور المساعد في تكاثر الفيروس الأول والذي يطلق عليه اسم ذنب أو تابع Satellite يدور في ذيل وفلك الفيروس المساعد Helper؛ مثال ذلك: مذنب فيروس تقرح التبغ (Tobacco necrosis satellite virus (STNV) الذي يتكاثر في وجود فيروس تقرح التبغ TNV، فقط، وكذلك فيروس مذنب الأدنو Adeno satello virus، أيضًا، الذي يتكاثر في وجود فيروس الأدنو، فقط، والفيروس المذنب يتبع عائلة أخرى هي عائلة بارفو Pavoviridae ويحتوي على مورث من ح ن د مفرد الخيط s.s-DNA، على حين أن فيروس الأدنو المساعد يتبع عائلة أدنو Adenoviridae ذات المورث ح ن د مزدوزج الخيط d.s-DNA.



الشكل رقم (٣). صورة بالمجهر الإلكتروني للفيرويدات. (ليفي وزملاؤه، ١٩٩٤م).

(٢,٣,١١) الفيرويدات Viroids

ليست الفيرويدات تصغيرًا للفيروسات ولا هي منها، ولكنها عوامل ممرضة Pathogenic agents تسبب أمراضًا في بعض النباتات، فقط. وقد اكتشفها دينر Diener عام ١٩٧٢م. وتتكون الفيرويدات من جزء صغير من حامض نووي، فقط، عاريًا (أي لا يوجد له غطاء بروتيني). وهذا الحامض النووي هو ح ن ر مفرد الخيط (s.s-RNA) دائري مغلق Closed circular، وتخليقه يثبط بوساطة المضاد الحيوي اكتينوميسين د Actinomycin D الذي يثبط، فقط، ح ن ر. أي أن الفيرويد هو ح ن ر عار معدٍ ولكن، نظرًا لوجود مناطق متقابلة مكملة، فإنها تزدوج فيبدو كما لو كان عضويًا مزدوج الخيط (الشكل رقم ٣).

ومن أمثلة ذلك فيرويد درنة البطاطس المغزلية Potato spindle tuber viroid (PSTV) وكذلك مرض كادانج - كادانج Cadang - Cadang الذي قتل العديد من نخيل جوز الهند Coconut palms، وفيرويد تقزم كريزانثيمام Chrysanthemum stunt

viroid وفيرويد إكسوكورتس الموالح Citrus Exocortis viroid (CEV) وفيرويد شحوب ثمرة الخيار Cucmber pale fruit viroid (CPV) وفيرويد تقزم حشيشة الدينار Hop stunt viroid. ويعد الفيرويد جزيئًا واحدًا صغيرًا جدًّا من الحامض النووي ح ن ر والذي يظهر صفات وسطًا بين ح ن ر مفرد ومزدوج الخيط.

ومورث الفيرويد صغير يتكون من ٢٤٦ نيوكليوتيدة (كادانج - كادانج) أو ٣٥٩ (درنة البطاطس المغزلية).

ويعد العامل المسبب للالتهاب الكبدي "دلتا" في الإنسان Human hepatitis delta مشابهًا للفيرويد، ولذا يسمى فيروس الالتهاب الكبدي "د" Delta "D" Hepatitis. وعامل دلتا ح ن ر دائري مفرد الخيط ويتكون من ١٦٧٨ نيوكليوتيدة، أي أكبر من أي فيرويد نباتي، ويمكن أن يكون تركيبًا من شكل عصوي مزدوج الخيط، نتيجة لتكامل ٦١٪ من النيوكليوتيدات التي تزدوج وهذا التركيب يكون عالي الثبات في كل الفيرويدات علاوة على وجود تماثل نحو ٦٥٪ بين عامل دلتا وبين فيرويدات النبات مما حدا ببعضهم أن يدعي أن له أصلاً نباتيًّا. ويختلف عامل دلتا عن الفيرويدات فيما يلي:

١ - يحتاج ح ن ر لعامل دلتا إلى مساعدة من فيروس آخر خاصة من فيروس الالتهاب الكبدي باء B. hepatitis الذي يحتوي على ح ن د مزدوج الخيط لنقله وليس لتكاثره ولذا، يحاط بالتراكيب السطحية من فيروس الالتهاب الكبدي (أي يتخفى بعباءة غيره).

٢ - عامل دلتا يشفر لعدد أكبر من البروتينات مقارنة بالفيرويدات، والتي منها بروتين الأنتيجين Protein antigen الذي يتكون من ٢١٤ حامضًا أمينيًا، والذي يمكن أن يتعرف عليه عن طريق الأجسام المضادة Antibodies التي يكونها الجسم ضد العامل، ويطلق عليه الشكل الكبير (L)، وهو لازم كي يحاط الفيرويد بغطاء من HBsAg ولتجميعه في صورة فيروس كامل، أما البروتين الصغير فطوله ١٩٥ حامضًا أمينيًا ويساعد في تكاثر الفيرويد.

(٢,٣,١٢) الفيروسويدات Virusoids:

ليست فيروسات ولا فيرويدات ولكنها مجموعة من ح ن ر المذنبة Satellite RNA اكتشف وجودها داخل علب أو أغطية فيروسات معينة وسميت فيروسويدات (مفردها فيراسويد)، لأنها تركيبيًا تشبه الفيرويدات، أي من مادة وراثية، فقط، ومع ذلك، فإنها ليست معدية وتتكاثر، فقط، في وجود فيروس مساعد. ويمكن النظر إليها على أنها تتطفل على فيروسات ولا يمكن أن تتكاثر مستقلة.

(٢,٣,١٣) البريونات Prions:

مجموعة من العوامل المعدية تختلف في صفاتها عن الفيروسات وعن الفيرويدات. وهي جزيئات كبيرة لا هي ح ن د (DNA) ولا هي ح ن ر (RNA)، وإنما هي جزيئات من البروتين وزنها ٢٧ك (٢٧٠٠٠ دالتون). وهذا وضع غريب؛ فمن المعروف أن الذي يتكاثر هو الحامض النووي فكيف إذن يتكاثر البروتين؟!. ويوجد من هذه العوامل الممرضة سبعة أمراض في الحيوانات والإنسان وهي:

(١) الحكّاك Scrapie (النتّاف)، ويصيب الأغنام والماعز.

(٢) المرض المخي النقال في المنك Transmissible mink encephalopathy.

(٣) كورو Kuru في الإنسان.

(٤) مرض كرتيزفيلت - جاكوب في الإنسان Creutzfeldt- Jakob.

(٥) متلازمة جيرستمان - ستروسلر Gerstmann-straussler. في الإنسان.

(٦) مرض النحول المزمن Chronic wasting disease في الغزلان والأيائل.

(٧) المرض المخي الإسفنجي في الأبقار Bovine spongy form'encephalopathy والمسمى جنون البقر.

وتتميز بأنها ذات تأثيرات مرضية على الجهاز العصبي وفترة حضانة طويلة تتراوح بين شهرين و عقود (قبل ظهور المرض)، وبأنها أمراض مزمنة مداها أسابيع إلى سنين، إذ تؤدي للموت. وبروزينر Prusiner هو الذي أطلق كلمة

بريـون لتعـني العـامل المعـدي الـبروتيني Proteinaceous infectious agent. والبريونات حساسة للإنزيمات محللة البروتين وليست حساسة للإنزيمات محللـة الحامض النووي كما أنها أكثر مقاومة مـن الفيروسـات للإشـعاع وغيرهـا مـن المعاملات التي تثبط الفيروس. وهي تتكون من ليفات نشوية Amyloid fibrils. وربما يكون مسبب مرض عته الكبار والمعروف بالزهايمر Alzheimer's disease واحدًا من هذه البريونات.

الفصل الثالث

تنقية الفيروسات
Purification of Viruses

(٣,١) مقدمة Introduction

تعني تنقية الفيروس عمل حصاد Harvest لمصدر كبير من الفيروس المتكاثر بغية الحصول عليه في صورة نقية جدًّا، أي مفصولاً ومنزوعًا منفردًا بعيدًا عن محتويات الخلايا التي تكاثر فيها ومكوناتها. وتشتمل هذه الطريقة على تركيز المصدر الأصلي للفيروس المتكاثر، وبذا يسهل تناول حجم أقل حتى يمكن فصل الفيروس عن أجزاء الخلايا وبقاياها Debris وكذلك العضيات Organelles. وأنه من الضروري جدًّا الحصول على صورة مطلقة من الفيروس النقي وذلك لعمل التحليلات الكيميائية والدراسات الوراثية والدراسات المصلية الخاصة بالفيروس، وكذلك في تحضير أنواع خاصة من اللقاحات أو الطعوم Vaccines، أيضًا.

(٣,٢) عمل حصاد للفيروس Preparation of Virus Harvest

بالنسبة للفيروس المعزول Isolated virus، أو أي فيروس موجود ومطلوب عمل تنقيته، أولاً إكثاره Propagation على نطاق كبير في العائل المناسب، وعادة ما تتكاثر الفيروسات النباتية بعد حقنها في نباتات صغيرة مزروعة في بيوت محمية منيعة ضد الحشرات، أما إكثار فيروسات الحشرات فيكون بحقنها في يرقات Larvae الحشرات، وعادة ما تتكاثر فيروسات الحيوان والإنسان بعدة طرق، إما في الحيوانات

التجريبية Experimental animals ، وإما في أجنة الدجاج داخل البيض Chick embryos ، وإما في مزارع الأعضاء أو الخلايا Organ or tissue culture. وبخصوص الفيروسات التي تصيب البكتيريا والأكتينومايسيتات وغيرها من الأحياء الدقيقة ، فإنها تتكاثر بكفاءة في مزارع حديثة النمو Young cultures (٣ - ٨ ساعات) في الأوساط الغذائية السائلة.

ولا بد من حصاد كمية ضخمة من المادة المصابة ، ويمكن الشروع فورًا في تنقية هذا الحصاد أو أن يخزن بين - ٧٠° م أو - ١٩٦° م لحين الحاجة إليه. ويجب ، عند تنقية حصاد الفيروس ، وضعه في محلول منظم Buffer ضمانًا لثبات الأُس الهيدروجيني خلال العمليات اللاحقة.

ويمكن عمل مهروس Homogenate مباشرة من الخلايا المصابة أو من العينات المجمدة بالتبريد ، ويعمل هذا المهروس بالطحن في الخلاط أو بالموجات فوق الصوتية Ultrasonic أو بالتجميد Freezing والصهر Thawing لعدة مرات ، كما أن إضافة منظف Detergent مثل دوديسيل كبريتات الصوديوم (Sodium dodecyl sulfate (SDS ، أو دي أوكسي كولات Deoxycholate يمكن أن تساعد في تحرير Release الفيروسات من الخلايا العائلة ، كما أنه ، في هذه الحالة ، من المهم إضافة مثبطات للإنزيمات Enzyme Inhibitors حتى تعوق تأثير أية إنزيمات قد تهاجم البروتين الفيروسي أو الدهون أو الجليكوبروتين مما يتسبب عنه تحلل الدقائق الفيروسية وتفككها.

(٣،٣) الطرد المركزي التفاضلي Differential centrifugation

إن أول خطوة في تنقية الفيروس عادة هي إجراء الطرد المركزي على مهروس الخلايا المصابة بالفيروس وذلك من أجل إزالة الخلايا غير المكسرة ، وكَسْر الخلايا Broken cells والكتل البروتوبلازمية والأنوية وأية عضيات أخرى وبقايا الخلايا Cell debris.

ويجب أن تجرى كل عمليات تنقية الفيروس تحت ظروف من التبريد Cooling ؛ لأن الحرارة تفكك العديد من الفيروسات وتفقدها حيويتها وقدرتها على إحداث الإصابة ، كما أن الطرد المركزي يولد حرارة تدمر الفيروسات وتراكيبها.

ويجرى الطرد المركزي عادة، في دورتين أو ثلاث متبادلة ما بين الطرد المركزي منخفض السرعة Low speed cntrifugation والطرد المركزي عالي السرعة High speed centrifugation. وعند البدء في عملية الطرد المركزي، يعبأ مهروس الخلايا في أنابيب طرد مركزي تُملأ إلى ثلثي حجمها، ثم توزن كل أنبوبتين على ميزان بحيث تتساويان تمامًا، وتوضع كل أنبوبتين متوازنتين أمام بعضهما في تجاويف الرأس اللفافة Head = rotor (سواء كان ثابت الزاوية Fixed angle أو مرجحًا Swinging). وتجرى عملية الطرد المركزي عند سرعة ٢٠٠٠-٥٠٠٠ لفة في الدقيقة، Round per minute (r.p.m) وذلك لمدة ٣٠ دقيقة، مما يؤدي إلى ترسيب كل بقايا الخلايا في صورة راسب pellet على حين أن السائل الرائق supernatant يحتوي على الفيروس وبقايا الخلايا الصغيرة جدًّا وكذا العضيات.

بعد ذلك، يؤخذ الرائق المحتوي على الفيروس، ويعاد توزيعه في أنابيب طرد مركزي جديدة ويعرّض لطرد مركزي عالٍ عند ١٠٠٠٠ إلى ٣٠٠٠٠ لفة في الدقيقة لمدة نصف ساعة في آلة طرد مركزي عالية السرعة ذات رأس دوار ثابت الزاوية ويتم ذلك عند درجة حرارة ٤ ° م. في نهاية هذا الطرد المركزي، تترسب من المعلق كل المحتويات مثل الفيروس والبقايا الخلوية الصغيرة جدًّا وعضيات الخلية. ومن ثم، يؤخذ هذا الراسب بعد فصله عن الرائق سريعًا، ويذاب في بضعة ملّيلترات من المحلول المنظم، ثم يعرَّض لدورة ثانية من الطرد المركزي منخفض السرعة ثم عالي السرعة.

ويستخدم الراسب الذي تكون في دورة ثالثة من الطرد المركزي وذلك للحصول على تحضير شبه نقي Partially purified أو منقى، إلى حد كبير، كما في حالة فيروس تبرقش التبغ (TMV). ويحتاج هذا التحضير شبه النقي أو المنقى جزئيًا مزيدًا من عمليات التنقية.

(٣,٤) الترسيب بالطرد المركزي على متدرج كثافة السكروز

Sucrose-Density Gradient Centrifugation (Sedimentation)

نستعمل في هذه الطريقة جهاز الطرد المركزي فائق السرعة Ultracentrifuge المبرد والذي يوجد له رأس مرجح Swinging-out rotor. ويستخدم في هذه الطريقة

التحضير شبه النقي للفيروس وذلك بتحميل معلق الفيروس على قمة عمود من متدرج كثافة السكروز معمولاً في أنابيب خاصة من البروبيلين Propylene أو عديد الكربونات Polycarbonate ، وتتكون الطبقات المتدرجة لعمود السكروز من كثافات ١٠ ، ٢٠ ، ٣٠ ، ٤٠ ، ٥٠ ، ٦٠٪ قوة تركيز من السكروز بهذا الترتيب نفسه من أعلى إلى أسفل، ونلاحظ في العمود أن اللزوجة والكثافة والتركيز تكون في نظام متدرج خطي من قمة أنبوبة الطرد المركزي إلى قاعها.

ويجري الطرد المركزي عند سرعة ٣٠٠٠٠ - ٤٠٠٠٠ لفة في الدقيقة، وأثناء ذلك، تتحرك الدقائق الفيروسية والريبوزمات والمقتدرات Mitochondria وباقي المكونات الخلوية وتنفصل عن بعضها وتتجمع هذه المكونات في العمود كل على حدة لتنفصل في صورة حزمة حادة المعالم تبعًا لحجم كل مكون وكثافته ووزنه الجزيئي، وترى هذه الحزم معتمة بين العمود الشفاف من السكروز عندما تفحص ضد مصدر الضوء. وفي حالة وجود فيروسات ملوثة Contaminant viruses وأغطية فيروسية فارغة Empty capsids وفيروسات متعددة الدقائق أو فيروسات مذنبة Satellite ، فإنها سوف تنفصل كل على حدة في حزمة أو حزم مختلفة ومنفصلة.

ويجري بعد عملية الطرد المركزي على عمود السكروز عملية تجميع لفصل كل حزمة على حدة، ويتم ذلك إما عن طريق ثقب Puncturing الأنبوبة من القاع بوساطة إبرة وإما أن يسحب كل جزء من أعلى الأنبوبة بوساطة ماصة ولكن بحذر شديد دون أن يهز العمود، وفي حالة جمع الأجزاء من قاع الأنبوبة المثقوبة، يتم ذلك يدويًا أو بوساطة مجمع أجزاء Fraction collector أتوماتيكي بحيث يراعى أن يكون حجم كل جزء متساويًا.

بعد تجميع هذه الأجزاء، يختبر كل جزء منه لإثبات وجود الفيروس عالي النقاوة. كما يمكن، أيضًا، من هذه الطريقة قياس معامل الترسيب "S" Sedimentation coefficient ، وهي وحدة قياس معامل الترسيب، وهي وحدة سفيدبرج Svedberg unit ويُستخدم، معيارًا مرجعيًا Reference قيمة S للريبوزمات S = ٨٠ .

(٣,٥) الطرد المركزي المتوازن Isopycnic centrifugation

يستخدم في ذلك آلات طرد مركزي ذات رأس مرجرج Swinging -out rotor لتنقية تحضير الفيروس المنقى جزئيًا على متدرجات Gradients محضرة من أملاح معادن ثقيلة مثل كلوريد السيزيوم Cesium chloride وكبريتات السيزيوم Cesium sulfate أو طرطرات البوتاسيوم Potasium tartarate. فعلى سبيل المثال، يعد متدرج كثافة خطي Linear في أنبوبة من البلاستيك ويوضع الفيروس المنقى جزئيًا على قمة متدرج الكثافة. ويستمر الطرد المركزي المبرد في جهاز خاص نحو ٢٠ ساعة مستمرة عند ٥٠ -٦٠ألف لفة في الدقيقة. وبعد انتهاء الطرد المركزي مباشرة، يثقب قاع الأنبوبة وتجمع المحتويات في أجزاء صغيرة وتقاس كثافة كل جزء وذلك عن طريق قياس دليل الانكسار Refractive index بجهاز قياس الانكسار Refractometer.

(٣,٦) الترشيح خلال الهلام Gel filtration والفصل اللوني (الطبقي) بالتبادل الأيوني Ion Exchange Chromatography.

لتنقية تحضير الفيروس، يمكن استخدام عمود زجاجي قطره ٢ - ٣ سم بارتفاع ٣٠ -٥٠ سم ثم يملأ بعجينة سائلة Slurry من سيفادكس ج - ١٥٠ أو ج - ٢٠٠ (Sephadex G-150 or G 200) أو من خرزات سيفاروز Sepharose 2b, c beads. وبعد تعبئة خرزات العمود، يُحَمّل معلق الفيروس بحرص شديد تحت سطح المحلول المنظم الموزع فيه مسحوق سيفادكس، ثم بعد ذلك، يجري صرف Elution المحلول المنظم في أحجام متساوية من المحلول المنظم وما قد يمر معه من مكونات معلق الفيروس.

أما في الفصل اللوني بالتبادل الأيوني، فإنه يمكن استخدام عمود منه لتنقية الفيروس. وعادة ما تحاط الفيريونات بشحنات سالبة ومن ثم؛ يسهل ادمصاصها Adsorption لمركبات التبادل الأيوني مثل ثنائي إيثيل أمينو إيثيل السليلوز Diethylamino ethyl cellulose (DEAE) أو داوكس Dowex. وعند وضع العينة على مثل هذا العمود، فإنه إما أن يستخدم محلول منظم بأرقام هيدروجينية مختلفة أو ملح

الطعام، على سبيل المثال) بتركيزات مختلفة، إذ يمكن أن تُصرف (تفك) Elute الفيروسات من العمود في جزء معين من الأجزاء الخارجة، أما الشوائب الموجودة في تحضير الفيروس المراد تنقيته، فإنها تصرف بمحاليل صارفة Eluents ذات تركيزات حامضية أو أيونية مختلفة عن تلك المستخدمة لصرف الفيروس.

(٣,٧) طرق الترسيب Preciptiation Procedures

(أ) التمليح "Salting- out"، وذلك بوساطة كبريتات الأمونيوم Ammonium sulfate التي استخدمت منذ زمن بعيد لعزل البروتينات والإنزيمات، إلا أنه لا يزال لها تطبيق واسع في المراحل الأولى من تنقية الفيروس. ولكي يمكن الحصول على بضعة مليجرامات من الفيروس النقي، يلزم استخدام أحجام من معلقات الفيروس أو مهروس الخلايا المصابة بالفيروس لا يقل حصاده عن بضعة لترات، ويضاف لهذا المهروس "أو المعلق" نحو ثلث تشبعه Saturation من كبريتات الأمونيوم الصلبة. بهذا، فإن الفيروس، كما هو الحال بالنسبة للبروتينات والإنزيمات، يترسب بصورة جيدة خاصة عند عمل طرد مركزي مع التبريد.

(ب) إضافة بولي إيثيلين جليكول - ٦٠٠٠ (Polyethlene glycol - 6000) الصلب (٢٧ جم/لتر)وكلوريد الصوديوم الصلب (٧ جم/لتر) إلى مهروس الفيروس ثم يحفظ عند درجة حرارة ٤ °م لمدة ١٢ساعة، إذ يترسب البروتين والفيروس. وهذا الراسب يمكن إذابته في محلول منظم ثم طرده مركزيًا centrifuged عند ٣٠٠٠ لفة في الدقيقة لمدة نصف ساعة وبذا تترسب البقايا، ويظل الفيروس معلقًا في السائل وتفصل مادة البولي إيثيلين جليكول؛ لأنها لا تؤثر على حيوية الفيروس أو قدرته على إحداث الإصابة.

(جـ) إضافة خلات الزنك Zinc acetate إلى مهروس الفيروس عند أس هيدروجيني متعادل، فيؤدي إلى تكوين راسب متكتل Flocculent precipitate من هيدروكسيد الزنك الذي يؤدي إلى ترسيب الفيروس معه بكفاءة شديدة. وهذا الراسب قابل

للذوبان بسرعة في محلول منظم يحتوي على إيثيلين ثنائي الأمين رباعي حامض الخليك (EDTA)Ethlene diamine tatra acetic acid، الملح ثنائي الصوديوم Disodium salt.

(٣,٨) طريقة الادمصاص الدموي Haemadsorption

تعد هذه الطريقة سهلة جدًّا وسريعة ومنتجة في تنقية أنواع معينة من فيروسات الإنسان والحيوان، خاصة تلك التي تمتلك خاصية الادمصاص الدموي، أي الالتصاق بكرات الدم الحمراء، مثل فيروس الإنفلونزا Influenza وفرة الدجاج (فيروس نيوكاسل Newcastle disease virus) والحصبة Measles وغيرها. فعند خلط متجانس الفيروس غير النقي مع كرات الدم الحمراء تتشابك الفيروسات مع كرات الدم الحمراء عند درجة حرارة ٤ °م وتحضن بضع ساعات، ثم يفصل راسب الفيروس وكرات الدم عن باقي الشوائب بالطرد المركزي، ويؤخذ الراسب ويوضع في محلول منظم عند درجة حرارة ٣٧ °م لبضع ساعات. بعدها، يفصل الفيروس نقيًا بعد الطرد المركزي منخفض السرعة ٣٠٠٠ لفة في الدقيقة لمدة ١٥ دقيقة، وذلك لأن إنزيم محطم مواضع الاستقبال Receptor destroying enzyme (RED) يعمل على الخلايا فيفصل الفيروس وحده بعيدًا عن خلايا الدم الحمراء.

(٣,٩) الأدلة على نقاوة تحضير الفيروس Criteria for virus purification

١ - بواسطة قياس الضوء الطيفي Spectrophotometry: يمكن تحقيق ذلك بقياس التحضير المنقى النهائي على جهاز مقياس الضوء الطيفي Spectrophotometer المزود بمصباح أشعة فوق بنفسجية UV lamp والذي به يمكن تعيين الكثافة الضوئية (.Optical density (O.D لأي محلول أو معلق. وحيث إن الفيروسات تحتوي على بروتين وحامض نووي بنسبة ثابتة لكل فيروس، لذا فإن هذا القياس له دلالة خاصة. ويرجع امتصاص الأشعة فوق البنفسجية للبروتينات نتيجة وجود

الحموض الأمينيـة تربتوفـان Tryptophan وتيروسـين Tyrosine ، وإلى درجة أقل ، لوجود فينيل ألانـين Phenyl alanie ، لـذا فإن امتصاص البروتين للأشـعة فـوق البنفسجية يظهر أدناه Minimum عند طول موجة ٢٦٠ نانومترًا وأقصاه Maximum عند ٢٨٠ نانومترًا. أما بالنسبة للحامض النووي فـإن امتصاصـه للأشعـة فـوق البنفسجية يكون أدناه عند ٢٣٠ نانوميترًا وأقصاه عند ٢٦٠ نانومترًا.

لذا يقاس تركيز البروتين عند ٢٨٠ نانومترًا، ويقـاس تركيز الحامض النووي عند ٢٦٠ نانومترًا. كما أن النسبة بين الكثافة الضوئية ٢٨٠/٢٦٠ سوف تكون عالية بالنسبة للفيروسات التي تحتوي على بروتينات بكميات أكبر والعكس صحيح ، أيضًا.

٢ - بوساطة النظائر المشعـة Radioisotopes : يمكـن عمـل ذلك بتشعيـع Labelling (تعليـم Marking) البروتين الفيروسـي أو الحامض النـووي بالنظـائر المشـعة مستخدمين في ذلك الفوسفور المشع p^{32} أو الكبريت المشع S^{35} أو الكربون المشع C^{14} أو اليوريدين المشع Tritiated uridine أو الثيمدين المشع Tritiated thymidine. كذلك فإن إضافة خلايا العائل المشـعة نوعيًا ، أيضًا ، إلى محصول الفيروس غير المشعع الناتج عن خلايا مصابة غير مشععة ، يمكن أن يؤكد نقاوة تحضير الفيروس في آخر خطوة وذلك عندما يختفي تمامًا أي نشاط إشعاعي منها ، أي أنه لا يوجد أي بقايا من الخلايا المشعة ويكون قد بقي الفيروس نقيًا ونظيفًا.

٣ - باختبارات الإصابة By infectivity tests : يمكن استخدام معلق الفيروس المركز أو أجزاء الفصل الناتجة عن أعمدة الفصل اللوني أو متدرجات الكثافة أو الحزمة المفصولة على النظام الأخير، كل ذلك يمكن استخدامه في حقن العائل المناسب الحساس Proper susceptible host ، وسوف توضح نتائج الحقن والإصابة ما يلي :

- إذا كان نقيًا أم لا.
- الحيوية Viability ، ما إذا كان حيًا أو ميتًا أو قد تفكك أو قد تحلل أو قد هرب أثناء التنقية أو لم يكن موجودًا أصلاً.
- التركيز : إذ إنه كلما كان مركزًا كانت نقطة النهاية بعيدة جدًا ويحتاج تخفيفًا.

كذلك، فإنه يفضل في هذه الاختبارات أن تكون متضمنة: اختبار معايرة الروائق Plaque assay (بالنسبة لفيروسات الحيوان والحشرات والبكتيريا) أو معايرة الجروح الموضعية Local lesion assay (بالنسبة لفيروسات النبات)، مثل هذه النتائج سوف تكون قاطعة.

٤ - بالاختبارات المصلية Serological tests: إن التحضيرات النهائية المحتوية على الفيروس النقي تمثل كمية ضخمة ومركزة من الأنتيجينات الفيروسية والتي تتفاعل مع المصل Serum المحتوي على الأجسام المضادة Antibodies النوعية للفيروس الناتج عن عملية التنقية، ويوجد الكثير من هذه الاختبارات المصلية التي تعطي نتائج دقيقة جدًّا وسريعة جدًّا عن طريق تفاعلات الترسيب Preciptitation reactions وغيرها من معقدات الأنتيجين - الجسم المضاد - Antigen antibody complex والتي من أهم مزاياها التعرف على نوع الفيروس.

٥ - بالمجهر الإلكتروني Electron microscopy: إن فحص تحضير الفيروس النقي بالمجهر الإلكتروني (النفاذ) النقال Transmission سوف يؤكد نقاوة Purity الفيروس من جهة، وسوف يقدم معلومات إضافية ذات أهمية كبيرة مثل:

(ا) تجانس Homogeniety الفيروس النقي أي أن لكل الدقائق شكلاً واحدًا وأبعادًا واحدة ومظهرًا واحدًا.

(ب) إذا وجد الفيروس في أكثر من حزمة أو جزء من التحضير، فإن هذا سوف يبين وجود أكثر من فيروسين إذا كان الجزءان معديين أو وجود دقائق فيروسية كاملة معدية (الحزمة الأثقل) ودقائق غير كاملة وغير معدية (في الحزمة الخفيفة) تكون محتوية إما على دقائق ناقصة Defective paricles وإما أغطية فارغة Empty capsids.

(جـ) إن كان توزيع الدقائق الفيروسية، سواء كانت من الحجم نفسه أو أحجام مختلفة في حزم مختلفة، فإن هذا يدل على اختلافها في الكثافات (سواء كانت متشابهة الحجوم أو غير متشابهة). ففي هذه الحالة، يبين اختبار

الإصابة إذا كانت الإصابة لا تنتج إلا من جمع هذه الأجزاء معًا، عندئذ، يكون هذا الفيروس من الفيروسات متعددة الدقائق Multiparticle virus.

(د) إذا وجد نوعان مختلفان من الدقائق الفيروسية في جزءين أو حزمتين مختلفتين وكان فيروس واحد منهما هو المعدي بذاته، أما الثاني فلم يكن بوسعه أن يحدث إصابة إلا في وجود الفيروس الأول، فإن هذا يعني أن الفيروس الأول مساعد Helper للفيروس الثاني ومستقلّ عنه، أما الفيروس الثاني فهو فيروس مذنب Satellite أو مرتبط Associated بالفيروس الأول.

(٣,١٠) مثال لطريقة تنقية فيروس

إن المثال المدون أدناه لتنقية الفيروس قد اختيرت له طريقة واضحة وسهلة، وهذه الطريقة استخدمت، أصلاً لتنقية فيروس التبرقش الأصغر في اللفت Turnip yellow mosaic virus (TYMV) تبعًا لطريقة ماركام وسميث Markham & Smith عام ١٩٤٩م والتي تتلخص فيما يلي:

١ - أحدث إصابة Infection للكرنب الصيني Chinese cabbage أو اللفت بالفيروس.

٢ - جمّع محصول Harvest أوراق النباتات المصابة بعد شهرين من الإصابة ثم اطحنها في محلول منظم واعصرها بين قطع من الشاش.

٣ - روّق Clarify العصير وذلك بإضافة ٣٠٠ مل من إيثانول ٩٠٪ لكل لتر من العصير، ثم صفها في أنابيب ودورّها Centrifuge في آلة الطرد المركزي عند ٣٠٠٠ - ٥٠٠٠ لفة في الدقيقة حتى يترسب Precipitate البروتين النباتي المتكتل Flocculated ثم اجمع السائل المفصول Supernatant الذي يكون لونه أصفر معتمًا Opaque.

٤ - أضف إلى السائل المفصول نصف حجمه من محلول مائي لكبريتات الأمونيوم المشبعة، والتي يبدأ الفيروس بعدها ببضع دقائق في التبلور ويتم ذلك في نحو ٤ إلى ٥ ساعات. لاحظ، أيضًا، تكون بعض بلورات من كبريتات الكالسيوم التي لا تذوب في الماء.

٥ - أعمل طردًا مركزيًا عند ٢٠٠٠ لفة في الدقيقة لترسب البلّورات. وأذب هـذه البلّورات في الماء ثم أعد الطرد المركزي.

٦ - أعد البلّورة Recrystallization للفيروس من كبريتات الأمونيوم ٣ إلى ٤ مـرات لتحصل على بلّورات ثمانية الأضلاع من الفيروس النقي.

الفصل الرابع

الشكل الظاهري والتركيب الدقيق والبناء المعماري للفيروسات

The Morphology & Ultrastructure & Architecture of Viruses

يحدد المظهر الخارجي لأي فيروس شكله وحجمه وملامحه الخارجية والتي تكون، عادة، مميزة للنوع المعين من الفيروسات.

وقد لوحظت أشكال ظاهرية محدودة بين أنواع الفيروسات المختلفة وتقع معظم أشكال الفيروسات بين واحد من ثلاثة أشكال عامة هي:

١ - الكروي Spherical وتكون فيه الدقائق الفيروسية كروية ظاهرية، ولكنها متساوية الأضلاع Isodiametric.

٢ دقائق متطاولة Elongated (عصي rods).

٣ تشكيل من الاثنين السابقين معًا: أي جزء منها كروي والثاني عصوي (ثنائي binal).

٤ ماعدا ماسبق، يكون شكلاً معقدًا Complex.

كما سبق ذكره، فإن مصطلح غطاء (علبة أو محفظة) Capsid قد أطلق على البروتين الذي ينبني حول الحامض النووي الفيروسي ويرتبط معه بشدة، ويطلق على هذا الارتباط مصطلح الغطاء النووي Nucleocapsid، كذلك، فإن مصطلح الصدفة Shell أو الغطاء Coat مرادف لمصطلح كابسيد.

أما عن الوحدات التركيبية Structural units، فهي تمثل قوالب الطوب Bricks وهي وحدات متماثلة Symmetrical من جزيئات البروتين التي ينبني منها الغطاء، كما يطلق عليها،

أيضًا، مصطلح وحدات بروتينية Protein units. وهذه الوحدات قد تكون من فرادى Monomers من تحت وحدات Subunits من البروتين أو، أحيانًا، تمثل تشكيلات Clusters صغيرة من تحت الوحدات، على سبيل المثال من اثنين Dimers، أو ثلاث Trimers، أو رباعيات Tetramers أو خماسيات Pentamers أو سداسيات Hexamers.

ومن هذه الوحدات، فرادى أو في تشكيلات، تتكون الكابسوميرات Capsomers وهي التي تظهر على سطح الدقيقة الفيروسية عند فحصها بالمجهر الإلكتروني، وتكتسب الفيروسات التي تنتج عند أغشية الخلية، سواء في الستيوبلازم أو النواة، تركيبًا يتكون من الدهن والبروتين والكربوهيدرات، وهذا التركيب يحيط بالمحفظة النووية Nucleocapsid، ومن ثم، يطلق عليه اسم غلاف Envelope والبروزات الممتدة Projections من هذا الغلاف على السطح الخارجي للفيروس أشواكًا Spikes أو، أحيانًا، تسمى نتوءات Peplomers.

والتركيب الأساسي لشكل الفيروس هو أن كل دقيقة فيروسية تتكون - على سبيل المثال - من العديد من تحت الوحدات البروتينية المتماثلة وجزيء واحد أو بضعة جزيئات من الحامض النووي. كذلك فإن شكل الدقيقة الفيروسية يتحدد ببروتين الفيروس، أيضًا، إذ أن هذا الأخير يشكل معظم كتلة الدقيقة الفيروسية، وأن التشكيل Configuration وتفاعلات تحت وحدات البروتين تكون، أساسًا، راسخة ومحددة بتتابعات Sequences حموضها الأمينية Amino acids.

(٤,١) أنواع أشكال الفيروسات

Types of virus Morphology

(٤,١,١) الفيروسات غير المغلفة Non-enveloped:

١ - الشكل العصوي الصلب Rigid rod-shaped: وهذا الشكل يشبه العصا ويكون مستقيمًا، ومن أمثلة ذلك فيروس تبرقش التبغ Tobacco mosaic virus (TMV) (الشكل رقم ٤ أ) ونوع من فيروسات باكيولو Baculovirus المسببة للتعدد

الضلعي النووي Nuclear polyhedrosis في دودة الحرير، وفيروس خرخشة التبغ Tobacco rattle virus TRV المكون من دقيقتين: واحدة طويلة والثانية قصيرة (الشكل رقم ٤ ب)، وفيروس التبرقش المخطط في الشعير Barley stripe mosaic virus (من ثلاث دقائق مختلفة الأطوال).

٢ - عصوي مرن Flexible-rods: ويتميز هذا الشكل العصوي بأنه مرن وينحني وينثني على حسب طوله وطبيعته. ومن أمثلة ذلك بعض لاقمات البكتيريا العصوية إيشيريشيا كولاي *Escherichia coli*، مثل fl, fd, M13، وكذلك فيروس اصفرار البنجر Beet yellows وفيروسات البطاطس إكس PVX (الشكل رقم ٥) وواي PVY وإم PVM وإس PVS وكذلك فيروس القرنفل الكامن Carnation latent virus.

٣ - الشكل الباسيللي Bacili-form: استعيرت هذه التسمية من شكل البكتيريا العصوية Bacilli، فيكون شكل الفيروس عصويًا ولكن نهايتيه تكونان مستديرتين وليستا مستويتين، ومن أمثلة ذلك فيروس تبرقش البرسيم الحجازي Alfalfa mosaic virus (AMV) الذي يتكون من ٥ دقائق مختلفة في الطول والمحتوى (الشكل رقم ٦).

٤ - كروية Spherical (مكعبية متماثلة الأضلع Cubic isometric): وهذه الفيروسات تكون شكل الكرة تحت المجهر الإلكتروني، لكن، بزيادة التكبير، تتضح على سطح الكرة أضلعًا وبزيادة التكبير أكثر، تكون هذه الأضلع أكثر وضوحًا وتبدو في شكل مكعبي متماثل الأضلع، ومن أمثلتها فيروس شلل الأطفال Polio وكوكساكي Coxsacki وأدنو Adeno (الشكل رقم ٧) وريو Reo وفيروس تزركش الفول Broad bean mottle virus (BBMV) وفيروس تبرقش الخيار Cucumber mosaic virus (VMV) وفيروس التبرقش الأصفر في اللفت Turnip yellow mosaic (TYMV) (الشكل رقم ٧ب)، والفيروس الوميضي للحشرات Ividescent virus وفيروس اس في ٤٠ (SV-40) الذي يصيب القرود، وفيروس نخر التبغ Tobacco necrosis virus (TNV) وكذلك، اللاقم كيوبيتا Qβ، أيضًا. كما أن بعض فيروسات الكتيريا القولونية مثل فاج إم إس ٢ (MS-2) وفاي إكس - ١٧٤

(ϕx-174) هي أمثلة من الفيروسات المكعبية. كذلك فإن فيروس تبرقش القرنبيط Cauliflower mosaic (CaMV) يعد مثالاً لذلك كما في الشكل رقم (٦).



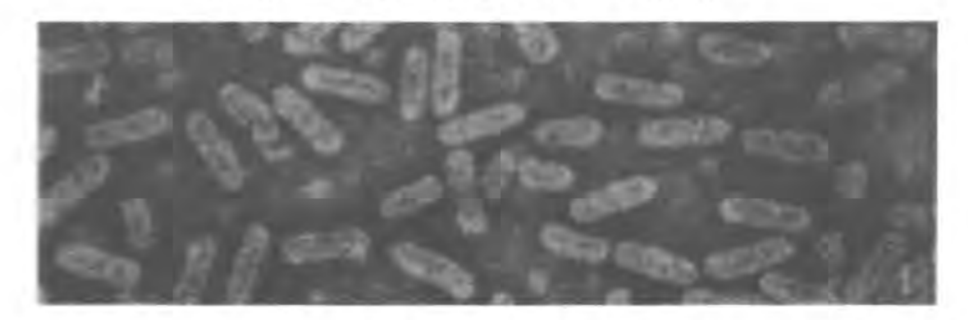
الشكل رقم (٤ أ). الشكل العصوي الصلب لفيروس تبرقش التبغ.



الشكل رقم (٤ب). الشكل العصوي الصلب لفيروس خشخشة التبغ من دقيقتين.



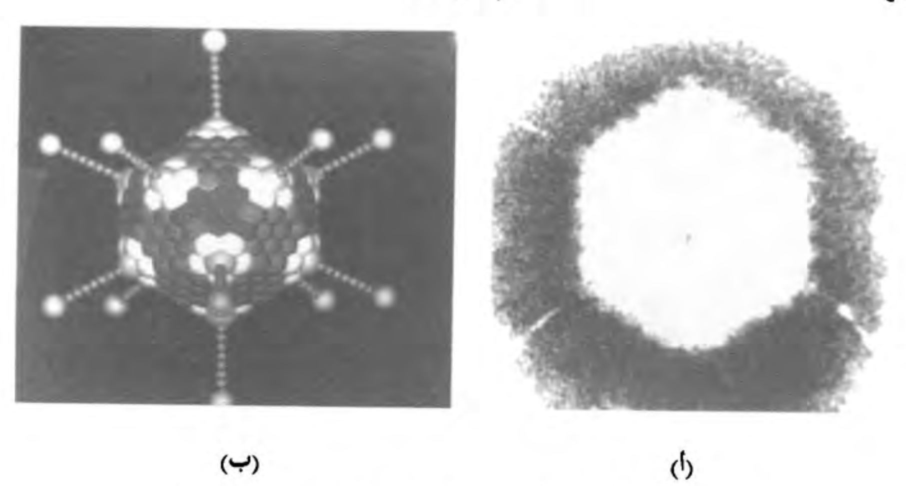
الشكل رقم (٥). الشكل العصوي المرن لفيروس البطاطس إكس.



الشكل رقم (٦). الشكل العصوي الباسيللي لفيروس تبرقش البرسيم الحجازي متعدد الدقائق.

(٢,١,٤) الفيروسات المغلفة Enveloped viruses

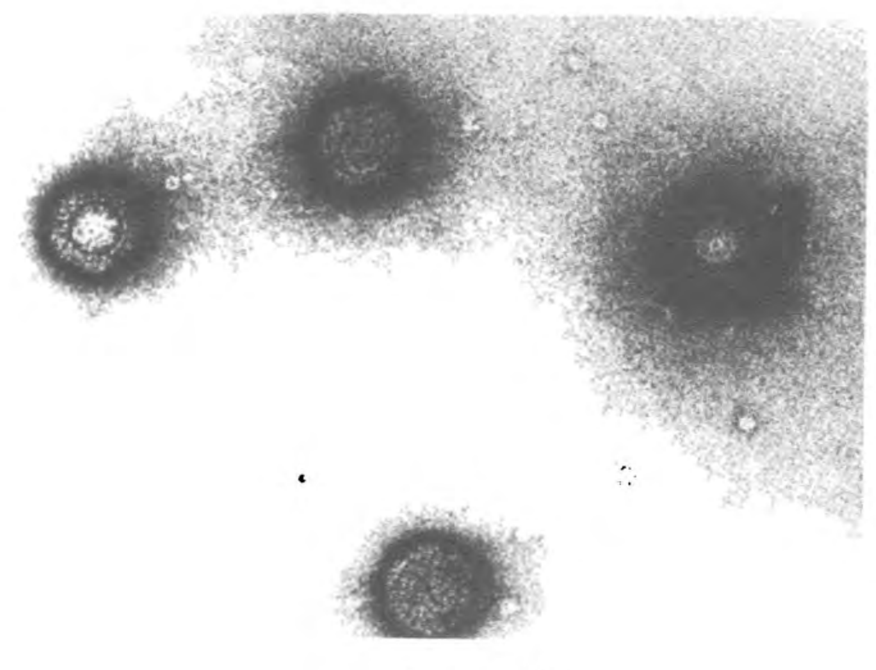
٥ - الكروي أو المكعبي Spherical or cubic : وهي مثل الفيروسات غير المغلفة لكن يزيد عليها وجود الغلاف Envelope المكون من طبقتي الدهن Lipid bilayers ، وأحيانًا بعض الأشواك Spikes. ومن أمثلة ذلك فيروس سندبيس Sindbis المعزول من قرية سندبيس بمحافظة القليوبية بمصر (الشكل رقم ٨)، وفيروس الحمى الصفراء Yellow fever ، وفيروس الحصبة الألمانية Rubella ، وفيروس القوباء (هيربيس) Herpes ، وفيروس الذبول المتبقع في الطماطم Tomato spotted wilt virus.



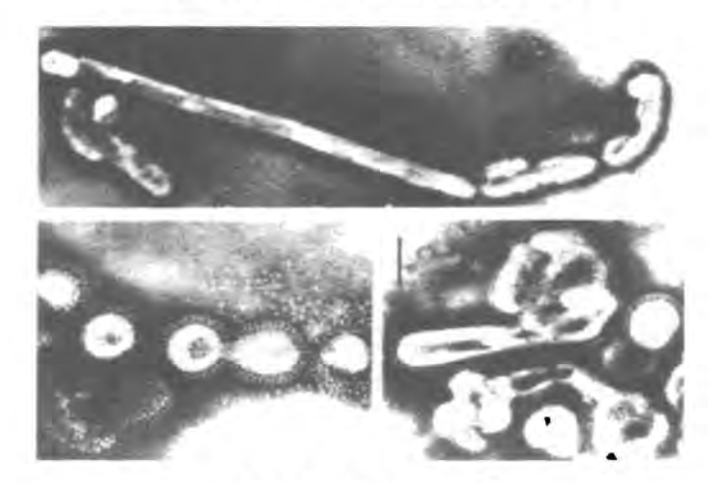
(ب) (أ)

الشكل رقم (٧). (أ) فيروس أدنو، صورة بالمجهر الإلكتروني (الصورة اليمنى).

(ب) نموذج (الصورة اليسرى).



الشكل رقم (٨). فيروس سنديس.



الشكل رقم (٩). فيروس الإنفلونزا.



الشكل رقم (١٠). فيروس السعار.

٦ - الشكل العصوي المغلف Enveloped rod-shaped : ومن أمثلتها فيروس الإنفلونزا Influenza ، الشكل رقم (٩)، الذي يبدو عند عزله لأول مرة، أنه في شكل عصوي وخاصة إنفلونزا ج (C) ، لكن، باستمرار استزراع Subculturing الفيروس في جنين الدجاج أو المزارع النسيجية، يتحول الشكل العصوي تدريجيًا إلى الشكل الكروي الذي يثبت غالبًا. ولذا فإنه من المستحسن وصف أشكال فيروس الإنفلونزا بأنها متغيرة Pleomorphic وذلك بسبب وجود غلاف دهني فضفاض.

٧ - الباسيللي المغلف Enveloped Bacilli : ومن أمثلة ذلك فيروس نبات جومفرنيا Gompherna virus وفيروس تبرقش القمح المخطط Wheat striate mosaic virus.

٨ - شكل الرصاصة Bullet-shaped : وهذه الفيروسات مثل شكل الرصاصة، إذ أنها عصوية مغلفة إحدى نهايتيها مستوية Truncated ، والثانية مستديرة مدببة أو منحنية Curved وكل هذه الفيروسات في عائلة واحدة تسمى عائلة رابدو Rhabdoviridae ومن أمثلتها فيروس السعار Rabies الشكل رقم (١٠)، وفيروس التهاب الفم المثاني Vesicular stomatitis virus (VSV) ، وفيروس سيجما Sigma virus في الحشرات، وفيروس التقرح الأصفر في الخس Lettuce necrotic yellows ، وفيروس التقزم الأصفر في البطاطس Potato yellow dwarf.

(٤,١,٣) الفيروسات المعقدة Complex virus:

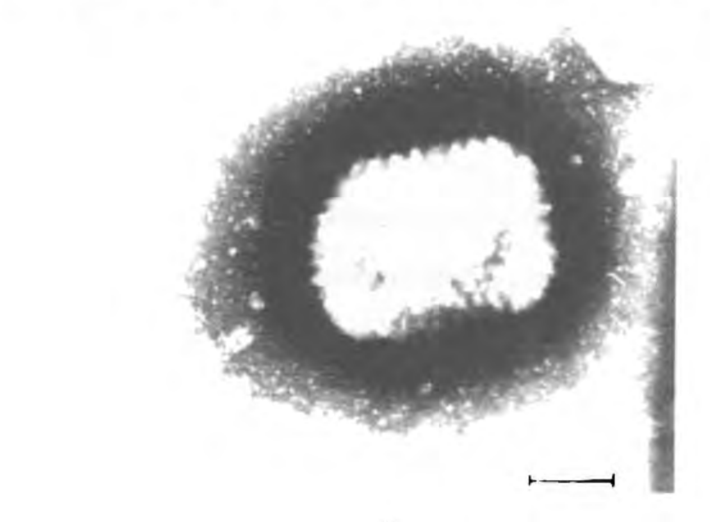
٩ - فيروسات الجدري Pox viruses : تعدُّ فيروسات الجدري من أكثر فيروسات الحيوانات تميزًا، وتضمها عائلة واحدة هي عائلة فيروسات الجدري Poxviridae. وفيروس الجدري من أكبر الفيروسات، إذ يبلغ طوله نحو ٣٠٠ - ٤٥٠ نانومترًا، وعرضه ١٧٠-٢٥٠ نانومترًا، وشكله العام مثل قالب الطوب - Brick-shaped ، وعند فحصة بالمجهر الإلكتروني المساح Scanning electron microscope ، نجد أن الدقيقة الفيروسية تكون محاطة بغلاف معقد التركيب يتكون من الفوسفوليبيدات المختلطة بالبروتين، وتوجد قنينات Tubules حولها مصاطب Ridges متقاطعة معًا Criss-crossed تتكون أساسًا من تحت وحدات. أما في القطاع عالي الرقة، وبالفحص بالمجهر الإلكتروني النفاذ (النقال) Transmission electron microscope ، فيبدو الغلاف المعقد متعرجًا Undulated ، ثم يليه أرضية Matrix من البروتين، ثم يوجد جسمان منتفخان يسميان الجسمين الجانبيين Lateral bodies يليهما للداخل طيات منبعجة من الجانبين ومختصرة Constricted في الوسط مقابل الجسمين الجانبين فيما يشبه الدمبل Dumpbell ، وهذا التكوين هو المحور Core المكون

خارجيًا من طيات في شبه طبقات عمادية Palisade-like layers من ح ن د مزدوج الخيط (d-sDNA) مختلطٍ معه بروتينات وإنزيمات، لذا يسمى نيوكليويد Nucleoid.

ويوجد في هذا المحور أربعة إنزيمات مهمة هي إنزيم مبلمر ح ن ر RNA polymerase، (وهو إنزيم النسخ Transcriptase)، وإنزيم مفسفر النيوكليوتيدات Nucleotide phospherylase، وإنزيم مبلمر ح ن د داخلي Deoxy endonuclease، وإنزيم مبلمر ح ن د خارجي Deoxy exonuclease. ومن ضمن فيروسات الجدري: جدري الإنسان Smallpox، وجدري البقر Cowpox، (وسلالة فاكسينيا Vaccinia)، وجدري الغنم Sheep pox، وجدري الأرانب والقرود والفئران (Ectromelia). وعمومًا، فإن فيروس الجدري هو من أكبر الفيروسات، بحيث إنه يمكن التعرف عليه في الخلايا المصابة بالمجهر الضوئي، وكذلك فإنه يحجز بالمرشحات البكتيرية.

١٠- فيروس القوباء Herpes virus (الحلأ): وهو فيروس مغلف يكاد يكون دائريًا لكنه مكعبي الشكل رقم (١٢)، قطر الفيريون ١٢٠-٢٠٠ نانومترا، ويتكون من أربعة مكونات، أولاً: غلاف من طبقتي دهن Lipid bilayer يخرج منه نوع واحد من الأشواك Spikes التي تتركب من الجليكوبروتين Glycoprotein، يليه شغاف Tegument يتكون من مادة مكورة Globular غالبًا ما تكون غير متماثلة التوزيع والكميات، ويحيط الشغاف بالمحفظة Capsid التي تكون مكعبية إيكوزاهيدرالية وذات قطر من ١٠٠ -١١٠نانومترات، والتي تتكون من ١٦٢ كابسوميرة ١٥٠ منها سداسيات واثنتا عشرة من خماسيات من تحت وحدات البروتين. ويلي صدفة المحفظة Capsid shell المحور Core الذي يتكون من بكرة ليفية Fibrillar spool ملفوف عليها المورث المكون من ح ن د مزدوج الخيط (d.s-DNA)، ويحتوي النيوكليويد على إنزيم ثايميدين كاينيز. ومن أمثلة ذلك فيروس القوباء البسيط ١، ٢ (Herpes simplex 1,2 هيربيس سمبلكس)، والجدري الكاذب أو العنقز Chiken pox (فاريسيللا - زوستر)، ومضخم الخلايا

Cytomegalovirus ، وإبشتاين – بار Epistein-Barr virus ، وكلها تصيب الإنســان كما أن غيرها يصيب الخيول والطيور والفئران وغيرها من الحيوان (الشكل رقم ١١).

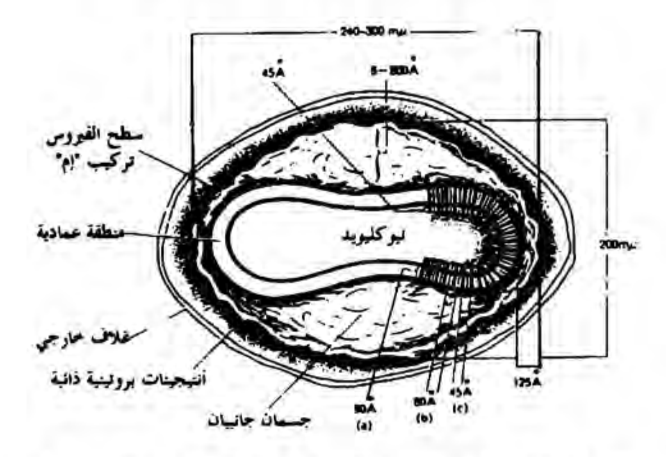


(أ)

(ب)

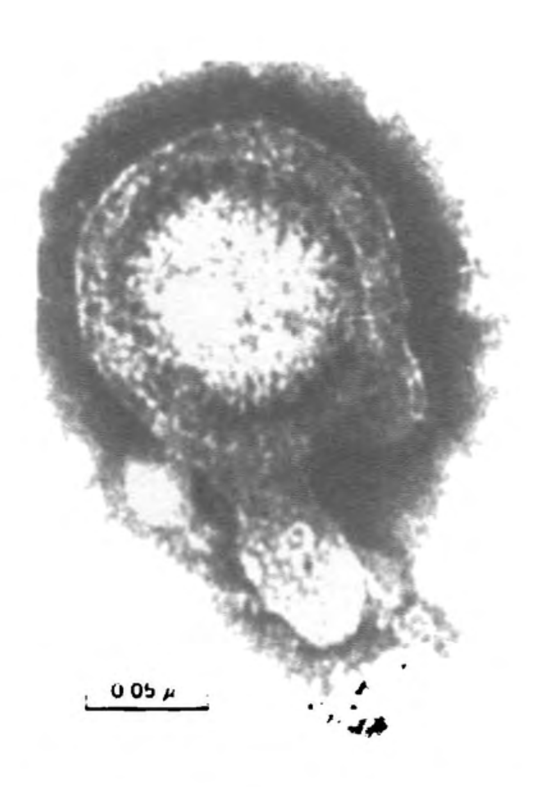
الشكل رقم (١١). (أ) فيروس جدري الإنســان.

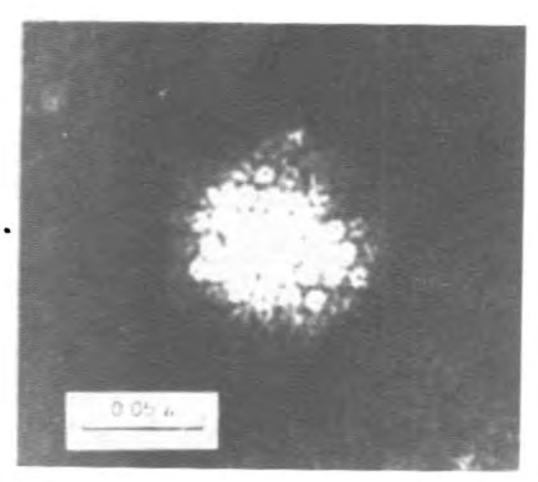
(ب) فيروس جدري الغنم.



الشكل رقم (١١جـ). مقطع في فيروس فاكسينيا (كوهين، ١٩٦٩م).

١١- فيروسات ح ن ر المسرطنة Oncornaviruses (الفيروسات العكسية Retroviruses):
هذه الفيروسات تضمها عائلة واحدة من عائلات فيروسات ح ن ر والتي تسمى Retroviridae (سابقًا Oncornaviridae) أي عائلة الفيروسات الرجعية أو العكسية حيث إنها الوحيدة التي يتم بها نسخ المورث ح ن ر (RNA) إلى ح ن د (DNA) (وهو عكس ما يحدث في كل الفيروسات وكل الكائنات الحية) نظرًا لاحتوائها على إنزيم خاص بذلك هو إنزيم النسخ العكسي Reverse transcriptase. وهذه العائلة- دون كل عائلات فيروسات ح ن ر - هي الوحيدة التي تسبب سرطان (RNA-tumor viruses) خاصة تحت العائلة ح ن ر المسرطنة Oncornavirinae. وتبدو الفيروسات لأول وهلة كروية لكنها مكعبية إيكوزاهيدرالية قطرها ٨٠ - ١٠٠نانومتر، إذ تظهر في القطاع عالي الرقة مكونة من غلاف خارجي من طبقتي الدهن تبرز منه زوائد منتفخة عقدية Knobs من الجليكوبروتين يليه للداخل صدفة المحور Core shell وهي إيكوزاهيدرالية، وتتكون من كابسوميرات يليها نيوكليويد Nucleoid، يتكون من جزءين حلزونيين من المورث ح ن ر المفرد s-sRNA المرتبط بالبروتين (نيوكلوبروتين). وهذا البروتين إنزيم فريد يسمى إنزيم النسخ العكسي





الشكل رقم (١٢). فيروس القوباء.

Reverse transcriptase الذي يقوم بنسخ المورث ح ن ر إلى ح ن د داخل الخلية المصابة (أي أنه إنزيم معتمد على ح ن ر ويبلمر ح ن د). كما يوجد إنزيمان آخران هما إنزيم محلل البروتين (بروتييز) Protease وإنزيم اللحام أو التكامل Integrase ومن أمثلة هذه الفيروسات، سرطان الثدي في الفئران Mouse mammary tumor virus، وفيروس سرطان راوس Rous sarcoma، وفيروس لوكيميا Leukemia في الطيور، والفيروس المسبب للأيدز AIDS المسمى فيروس نقص المناعة البشري Human immunodeficiency virus (اتش، أي. في H.I.V). والذي يتبع تحت العائلة البطيئة Lentivirinae كما في الشكل رقم (١٣).



تصميم مجسم لفيروس الإيدز أصغر الكائنات وأخطرها

الشكل رقم (١٣). فيروس إتش آي في Vo المسبب لمرض الأيدز.

(٤,١,٤) الفيروسات المحفظية

هذه مجموعة خاصة ومتميزة من الفيروسات من أهم خصائصها أنها تحاط بمحفظة Capsule علاوة على تركيب الفيروس الذي سبق ذكره، ويقتصر وجود هذه الفيروسات على مجموعة من فيروسات الحشرات Entomoviruses، ويطلق عليها عادة الفيروسات المحفظية أو مصطلح فيروسات مطمورة Occluded، حيث إنها تكون محوطة بتراكيب خارجية خاصة تحيط بالفيروس عبارة عن غلافين مركزيين Concentric. وتنقسم إلى نوعين على حسب الأمراض التي تسببها، أيضًا.

١ - أمراض ذات أجسام محتواة عديدة الأضلع Polyhedrosis inclusion bodies: إذ يكون شكل الجسم المحتوي عديد الأضلع من أرضية Matrix بروتينية معقدة يوجد بداخلها العديد من الفيريونات، ويكون لكل فيريون غشاءان واحد خارجي والثاني داخلي وتنقسم الأجسام المحتواة عديدة الأضلع إلى نوعين:

(ا) فيروسات عديدة الأضلع تتكاثر في السيتوبلازم Cytoplasmic polyhedrosis.

(ب) فيروسات عديدة الأضلع تتكاثر في النواة Nuclear polyhedrosis.

٢ - أمراض ذات أجسام محتواة حبيبية Granulosis: وتتميز كما في حشرة الدقيق الهندية Indean meal moth (*Plodia interpunctella*) إذ تكون كل حبيبة مكونة من أرضية بروتينية معقدة عبارة عن المحفظة يليها غشاءان أحدهما خارجي Exine والآخر داخلي Intinmate (intine) يحيط بالفيريون الذي يكون عصوي الشكل أي أن الجسم المحتوى هنا يضم فيريونًا واحدًا.

(٤,٢) الأجسام المحتواة Inclusion Bodies:

ينتج عن الإصابة ببعض الفيروسات تكوين أجسام محتواة داخل الخلية المصابة سواء في السيتوبلازم أو النواة. وهذه الأجسام تعد مظهرًا ودليلاً على الإصابة الفيروسية على المستوى الخلوي، ولذا فإن وجود الأجسام المحتواة يعد عرضًا مرضيًا على المستوى الخلوي، وأيضًا، تكون ذات مميزات خاصة في الصبغ وترى، عادة،

بالمجهر الضوئي بأحجام وأشكال واضحة كذلك. لكن بعض الأجسام المحتواة يمكن أن تكون دقيقة جدًا بحيث لا ترى إلا بالمجهر الإلكتروني. وقد تكون الأجسام المحتواة:

١ - تكوينًا من الفيريونات، فقط، يحتوي على تجمع مئات أو آلاف الدقائق الفيروسية في أشكال بلّورية Crystalline أو شبه بلّورية Paracrystalline.

٢ - تكوينًا من بعض الدقائق الفيروسية وبعض نواتج عملية تكاثر الفيروس.

٣ - تكوينًا من بعض الدقائق الفيروسية مختلطة ببعض مكونات الخلية أو ببروتينات تحيطها وتكون أرضية Matrix خاصة بها.

٤ - تكوينًا من بعض نواتج الفيروس مع بعض مكونات الخلية المصابة.

٥ - تشويهًا وتجمعًا لبعض عضيات الخلايا ومحتوياتها.

ويمكن استخدام طريقة الكشف عن الأجسام المحتواة في التشخيص Diagnosis والتعرف على نوع الفيروس أو وجوده داخل الخلية.

مثال ذلك أجسام نيجري Negri bodies التي توجد في سيتوبلازم الخلايا العصبية المصابة بفيروس السعار Rabies وكذلك مصانع Factories في سلالة فيروس جدري البقر "فاكسينيا Vaccinia" التي توجد في سيتوبلازم الخلايا المصابة. أما في حالة فيروس القوباء Herpes، فإنه يحدث في نواة الخلية المصابة تكتل Clump الكروماتين وتجمع على حواف النواة، وفي فيروس الأدنو Adeno، إما أن يكون الجسم المحتوى كلية من الفيريونات وإما أن يكون من بروتينات فيروسية، فقط، في بعض الأحيان.

أما في فيروسات النبات، فتنتشر تكوينات الأجسام المحتواة مع الإصابة بالعديد من الفيروسات، ففي نبات التبغ المصاب بالسلالة العادية من فيروس تبرقش التبغ TMV، تتكون في الستيوبلازم أجسام محتواة من صفائح بلّورية Crystalline plates. أما سلالة الطماطم من فيروس تبرقش التبغ والمسماة تبرقش أوكيوبا Aucuba، فإنها تحدث أشكالاً متنوعة من الأجسام المحتواة في الخلية المصابة نفسها، كأن تكون صفائح بلّورية سداسية Hexagonal أو شبه بللورات مغزلية أو تجمعات مغلظة زاوية. أما

فيروس تبرقش القرنبيط Cauliflower mosaic virus فإنه يكوّن أجسامًا محتواة مستديرة على شكل فيريونات مطمورة في أرضية كثيفة، وتحتوي على بروتين، ح ن ر، ح ن د (لاحظ أن هذا الفيروس المورث فيه من ح ن د DNA).

كذلك، فإن فيروسات خيطية مثل فيروس البطاطس واي PVY (طوله ٧٠٠ - ٩٠٠ نانومتر) تكون أجسامًا محتواة في صورة بريمة دورانية Pinwheel ، أيضًا. أما فيروسات النبات التي تكون أجسامًا محتواة داخل النواة فإنها قليلة، ومن أمثلتها تلك البلّورات البروتينية التي يكونها فيروس حفر الدخان Tobacco etching virus.

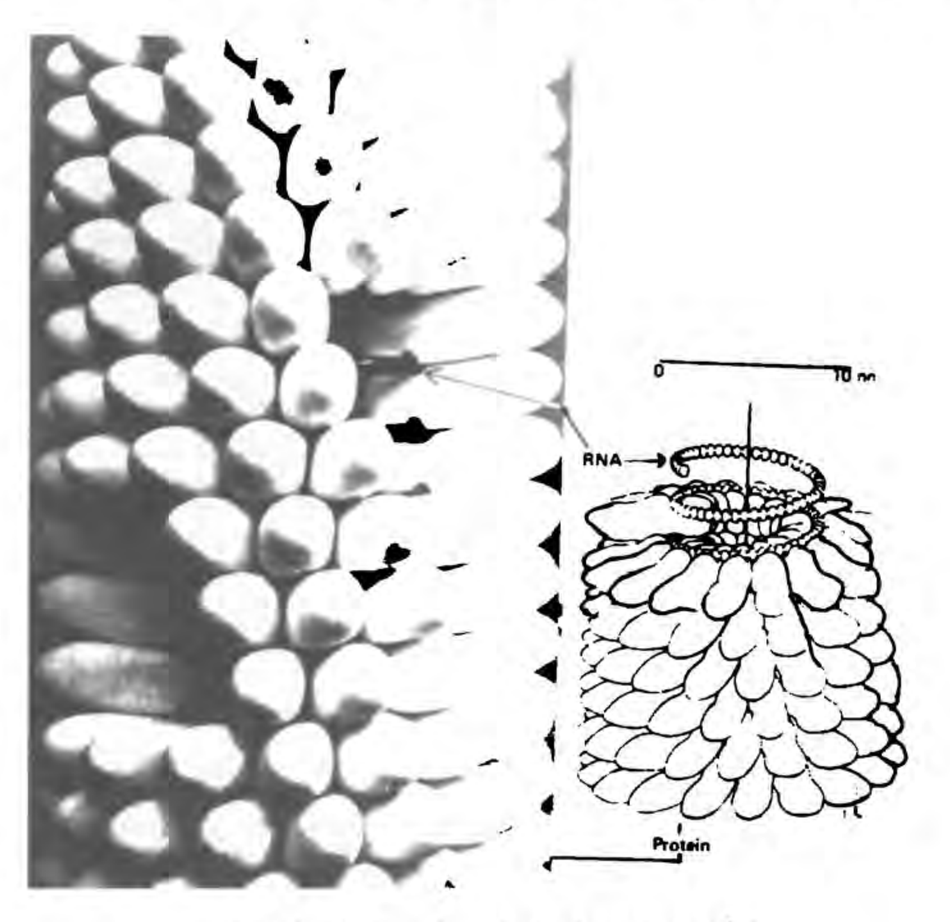
(٤,٣) هندسة الفيروسات المعمارية Architecture of Viruses

إن للفيروسات انتظامًا عجيبًا في حجمها وشكلها، إذ إن التركيب القاعدي يتكون من بروتين المحفظة أو الصدفة الذي يضم الحامض النووي. وتتكون هذه المحفظة من تحت وحدات البروتين المجمعة معًا بطريقة دقيقة ومميزة تبعًا للقواعد الهندسية البسيطة - فعلى سبيل المثال، نجد فيروسين لا تربطهما أية قرابة مثل فيروس شلل الأطفال Polio وفيروس التبرقش الأصفر في اللفت Turnip yellow mosaic يبنيان هندسيًا بالطريقة نفسها، بحيث لا يمكن التفريق بينهما مطلقًا من الناحية الشكلية.

وتتكون العلبة Capsid (الكابسيد) من الوحدات المورفولوجية التي ترى بالمجهر الإلكتروني على سطح الفيروس والتي تسمى كابسوميرات Capsomeres. وهذه الوحدات إما أن تكون من مفردات Monomers (individuals) من تحت وحدات البروتين Protein subunits ، وإما أنها تمثل تشكيلات بسيطة Simple clusters (على سبيل المثال، من ثنائيات Dimers أو ثلاثيات Trimers أو خماسيات Pentamers أو سداسيات Hexamers).

وقد يتكون الفيروس من العديد من تحت الوحدات البروتينية المتطابقة وجزيء واحد أو بضعة جزيئات من الحامض النووي. ويتحدد شكل الفيروس وأبعاده

عن طريق البروتين الفيروسي ؛ لأنه يكون معظم كتلة الفيروس ؛ ولأن تشكيل Configuration وتفاعلات تحت وحدات البروتين يكون ثابتًا في الأساس اعتمادًا على تتابعات Sequences حموضه الأمينية. وعن طريق النتائج التي يمكن الحصول عليها من التحليلات الكيميائية وأشعة إكس والمجهر الإلكتروني ثم فحصها على ضوء التماثل Symmetry من هندسة الجوامد Solid geometry وبناء النماذج Model building، فإن هذه توضح تماثل العلبة Capsid symmetry في الفيروس.



الشكل رقم (١٤). التماثل الحلزوني لفيروس تبرقش التبغ TMV.

(٤،٤) أنواع تماثل العلبة Types of Capsid Symmetry:

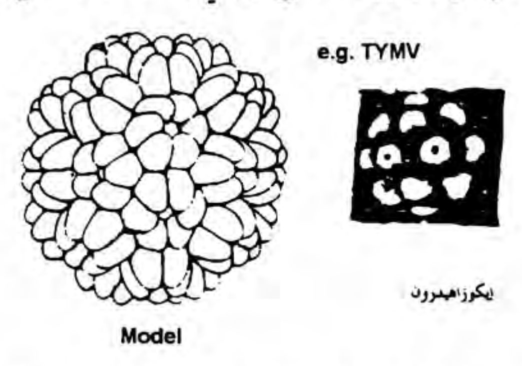
يوجد في الفيروسات نوعان، فقط، من التماثل:

١ - **التماثل الحلـــزوني Helical**: تتميز الفيروسات العصوية الشكل بأنها تتكون، بشكل عام، من علب ذات تماثل حلزوني إذ إن تركيب العلبة التي تكون حلزونية يعد بسيطًا؛ لأن الحلزون Helix يكون محورًا دورانيًّا واحدًا Rotational axis، إذ ترتبط Bound جزيئات البروتين وحيدة الجزيء (Protomer = monomer) مع بعضها بعضًا لتكون تركيبًا يشبه الشريط Ribbon-like، وينطوي هذا التركيب في شكل حلزوني؛ لأن تحت وحدات البروتين تكون أسمك في جانب عن الآخر، وتتكون روابط تفاعلات بروتين: بروتين Protein-protien interactions بين كل جزيء والذي قبله والذي يليه مما يعطي ثباتًا شديدًا لهذا التركيب. ويتوقف قطر العلبة الحلزونية على خواص تحت وحدات البروتين على حين يتوقف طولها على حسب طول الحامض النووي. وإن من أبسط طرق الترتيب المتماثل أن توضع المكونات على محيط Circumference دائرة لتكون أقراصًا Discs مما ينتج عنه تركيب ثنائي البعد أو العمق Two dimensional structure. فإذا رصصنا عددًا كبيرًا من الأقراص على قمة الواحد بعد الآخر، فإننا نحصل على تركيب قرصي مرصوص. وبذا نستطيع أن نبني تركيبًا ثلاثي البعد متماثلاً من مكونات غير متماثلة مثل جزيئات البروتين تاركًا مكانًا للحامض النووي. ولكن كل الفيروسات التي فحصت حتى الآن وجد أنها حلزونية وليست أسطوانية. ومن أمثلة التماثل الحلزوني فيروسات تبرقش الدخان TMV (الشكل رقم ١٣). وفيروس بطاطس إكس PVX والسعار Rabies، والحصبة Measles وسينداي Sendai والإنفلونزا Influenza (يكون الغطاء النووي Nucleocapsid حلزونيًّا في غلاف كرويّ) واللاقمات f1,fd,M13، وكذلك ذيل اللاقمات المذيلة Tailed phages. ولقد أشار كل من واطسون Watson وكريك Crick إلى أن الفيروسات العصوية لا تستطيع أن توفر أنواعًا عديدة من بروتينات المحفظة، ولذا، فإنها تصنع من نوع واحد من جزيء البروتين (أي سلسلة عديدة الببتيد المطوية).

٢ – **التماثل الإيكوزاهيدرالي Icosahedral**: يعد التماثل الإيكوزاهيدرالي مكعبيًا ويظهر مميزًا للفيروسات المكورة والمكعبية. وفيه يحدث تجمع Aggregation لجزيئات البروتين الوحيدة Monomers في مجموعات غالبًا ما تتكون من خماسيات Pentamers أو سداسيات Hexamers تتشكل منها الكابسوميرات ومن ثم، تنبني من الأخيرة العلبة. وتختلف الروابط غير التساهمية Non-covalent bonds بين وحدات البروتين في الكابسوميرات عن تلك التي توجد بين الكابسوميرات، إذ إنها تكون عادة أقوى، على الأقل، في العلب الفارغة، والتي يمكن أن تتفكك Disintegrate إلى كابسوميرات سليمة Intact أثناء عملية التنقية. ويتوقف شكل الإيكوزاهيدرون Icosahedron وأبعاده (نوع من أشكال البلّورات في علم البلّورات Crystallography) على خصائص وحدات البروتين، والكابسوميرات والعلب ومن ثم، فإنه يكون في النهاية محددًا بطريقة فريدة تبعًا لخواص سلاسل عديدات الببتيد، وفي النهاية، طبيعة جينات الفيروس التي تخلقه. والإيكوزاهيدرون هو شكل عديد الأضلع Polyhedron يتكون من اثني عشر ركنًا Vertices وعشرين سطحًا مثلثًا Triangular وثلاثين ضلعًا مشتركًا Edges. ويسمى عديد الأضلع الذي تكون كل أضلعه متساوية Equilateral دلتاهيدرون Deltahedron. وقد قام كل من كاسبار Caspar وكلوج Clug بحساب كل احتمالات التشكيل. إذا إن الإثني عشر ركنًا تشغلها كابسوميرات من مخمسات Pentons. أما العشرون وجه مثلث، فإن كلاً منها يحتوي على العدد نفسه من الكابسوميرات والمكونة من سداسيات Hexons، وربما تحتوي الخماسيات على ٥ والسداسيات على ٦ من تحت الوحدات. ولكن شذ عن ذلك فيروس الأدنو، إذ يحتوي على ثلاثة، فقط، وتتكون المخمسات والمسدسات في فيروسات الحيوان من سلاسل عديدات الببتيد المختلفة لكنها تكون متطابقة تمامًا في فيروسات النبات (الشكل رقم ١٥ أ، ب) ولاقمات البكتيريا ذات ح ن ر RNA phages وكذلك، فإن المسدسات يختلف عددها على حسب نوع الفيروس.

ويمكن دراسة التماثل في الإيكوزاهيدرون عن طريق فحص محاور مثلثة ترسم من خلال مركزه والتي تعتمد خواصه على الموقع الذي يعبر هذا المحور من سطح

الإيكوزاهيدرون. فتلك المحاور خلال الأركان، تخترق محورًا خماسي الأضلع وهو ما يسمى التماثل الدوراني الخماسي Five-fold rotational symmetry، وذلك كما يبدو من رؤية أو منظور الإيكوزاهيدرون على امتداد واحد من هذه المحاور؛ فكلما دار ليعطي ٥/١ لفة (٧٢ْ) حول المحور فإنه بذلك يعطي شكلاً متماثلاً. أما إذا كان تماثل الدوران ثلاثي البعد Three-fold symmetry، فيمر المحور فيه من مركز كل وجه مثلث فيعطي انتظامًا ثلاثيًّا، أما إذا كانت المحاور ثنائية البعد Two-fold، فإن المحور يمر من منتصفه فيبدو مثلثين. وبالتالي، فإن الإيكوزاهيدرون له تماثل دوراني ٥ : ٣ : ٢ (الشكل رقم ١٥جـ).



الشكل رقم (١٥أ). رسم تخطيطي للدقيقة الفيروسية لفيروس التبرقش الأصفر في اللفت TYM، إذ يتكون الكابسيد من ١٨٠ تحت وحدة، كل مجموعة تتكون من ٣ وحدات غير متماثلة. أما الوحدات المورفولوجية، البنتونات والهكسونات فتنتج عن تكتل تحت الوحدات.

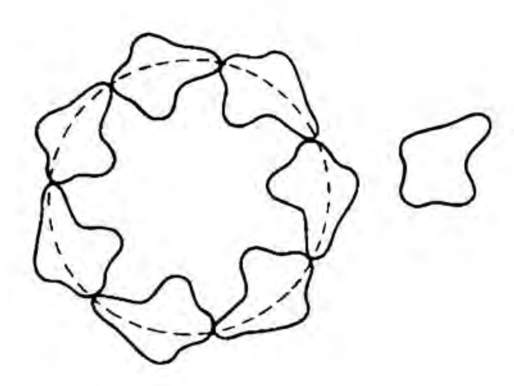


الشكل رقم (١٥ب). صورة بالمجهر الإلكتروني لفيروس أدنو ونموذج يبين كابسومير (هكسون) سداسي الأوجه وآخر خماسي الأوجه (بنتون).



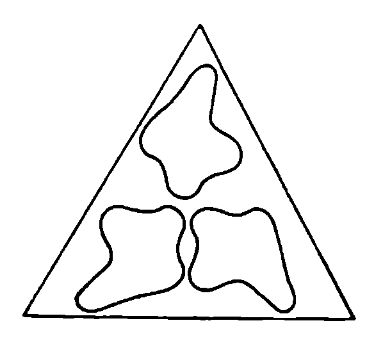
الشكل رقم (١٥جـ). رسم يوضح التماثل الدوراني ٥: ٣: ٢. (ليفين، ١٩٩٢م).

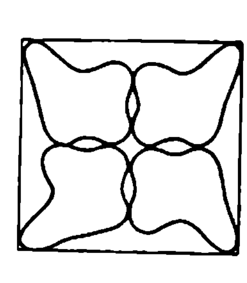
وكما سبق القول، فإن تحت وحدات البروتين من الأحاديات Subunit protomer تكون غير متماثلة Asymmetric. ومن بين الطرق التي يمكن بها عمل شكل منتظم متماثل من مكونات غير متماثلة هي أن توضع تحت وحدات البروتين هذه حول محيط دائرة لتكون أقراصًا كما سبق القول. ولكن ذلك يعطي تركيبًا ثنائي البعد، فإذا رصصنا عددًا كبيرًا من الأقراص على قمة واحد تلو الآخر، فإننا نحصل على تركيب قرص مرصوص Stacked disc ومن ثم، نستطيع أن نحصل على تركيب ثلاثي البعد من مكونات غير متماثلة (الشكل رقم ١٦).

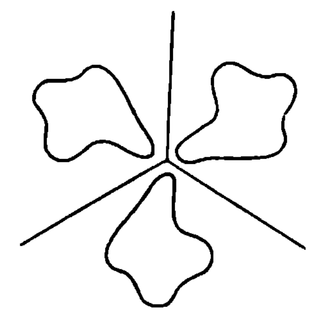


الشكل رقم (١٦). ترتيب تحت وحدات البروتين غير المتماثلة حول محيط دائري لتعطي تركيبًا متماثلاً.

وتوجد عدة إمكانات أو احتمالات لتماثل الإيكوزاهيدرون والتي يمكن بها ترتيب تحت وحدات البروتين خلال أوجه مثلثة أو مربعة (الشكل رقم ١٧). ويضرب عدد تحت الوحدات في عدد الأوجه، نحصل على أقل عدد من تحت الوحدات التي يمكن ترتيبها حول الشيء. ولتصميم شكل هندسي اقتصادي يفضل الشكل الإيكوزهيدرالي للفيروس؛ لأنه يحتاج عددا كبيرا من تحت الوحدات ليعطي شكل الكرة للحجم نفسه،

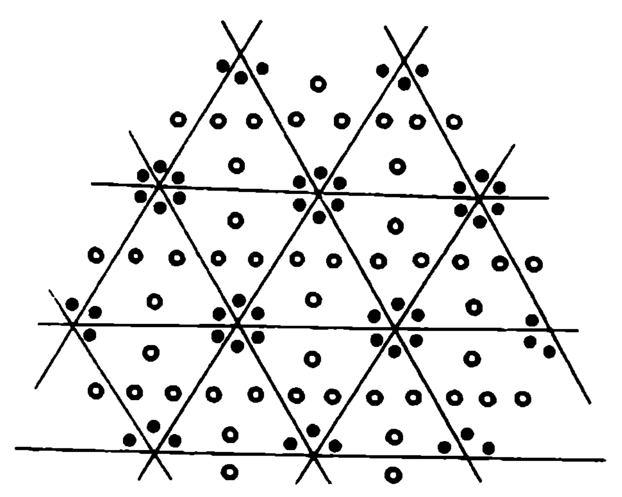






الشكل رقم (١٧). ترتيب متماثل لتحت وحدات غير متماثلة ولكن تكون متطابقة بوضعها على سطوح أشياء مكعبية التماثل، إذ تكون (أ) على وجه سطح مثلث، (ب) على وجه مربع و (جـ) على كل ركن.

ومن ثم، فإن حجم تحت الوحدات يكون صغيرًا مما يستوجب الاقتصاد في المعلومات الوراثية. والسبب الثاني: أنه يرجع إلى وجود ضغوط Strains طبيعية تمنع تعليب Packaging تحت الوحدات في أي شكل عديد الأضلع آخر مثل التماثل الرباعي Tetraherdron أو الثماني Octahedron. ويمكن ترتيب ٦٠ تحت وحدة في إيكوزاهيدرون، لكن مع ذلك، فإن الكثير من الفيروسات تتكون من أكثر من ٦٠ تحت وحدة، فإذا وضعت أعداد (ن) من ٦٠ تحت وحدة حول سطح كرة، فإن ذلك يمكن أن يحل المشكلة إذا رتبت في مجموعات عددها (ن) كل من ٦٠ تحت وحدة ولكن الأعداد في مجموعة قد لا تكون مساوية للمجموعة الأخرى، ويبين الشكل رقم (١٨) ترتيب تحت الوحدات. إذا كانت تحت الوحدات كلها ممثلة بدوائر مفتوحة (٥) ودوائر مقفولة (•)، فإنها تأتي متماثلة، ولكي يبنى من ذلك شكل متماثل، فإنه يأتي مستوحى من القبة الهندسية Geodesic dome التي بناها بكمنستر فوللر Buckminster Fuller في كندا (الشكل رقم ١٩).



الشكل رقم (١٨). الترتيب الفراغي لمجموعتين متماثلتين من تحت الوحدات. ويلاحظ أن أي تحت وحدة من المجموعة الممثلة بدوائر مغلقة ليس لها المتجاورات نفسها مقارنة بتحت الوحدات الممثلة بالدوائر المفتوحة.



الشكل رقم (١٩). قبة هندسية بلّورية مبنية من تحت وحدات غير متماثلة في تشكيل مثلثي لتعطي شكلا كرويًا منتظمًا. ليفين، ١٩٩٢م.

إذ صممت بتقسيم سطح الكرة إلى سطوح مثلثية Triangular facets ، ثم ترتيبها في تماثل إيكوزاهيدرالي.

إن اكتشافات تثليث الكرات يمثل التصميم Design المثالي لبناء صدفة مقفولة Closed shell من تحت وحدات متماثلة منتظمة الروابط Regularly bonded ومن ثم، فإن هذا التصميم يحتاج أقل قدر من الطاقة التي يحافظ عليها الفيروس ؛ لأنه يستمدها لآلاف الفيريونات من الخلية المصابة. ويفسر ذلك لماذا يفضل الفيروس بناء وحداته الفيروسية بالشكل الإيكوزاهيدرالي.

(٤,٥) تثليت الكرات The Triangulation of Spheres

إذا بدأنا بالإيكوزاهيدرون ثم رتبنا تحت الوحدات حول الأركان، فإننا يمكن أن نضع ١٢ مجموعة بكل مجموعة ٥ تحت وحدات. كذلك، فإننا يمكن أن نقسم كل وجه مثلث إلى أربعة مثلثات متماثلة، وأن نضع ٢٤٠ (١٢ مثلث × ٤ × ٥) تحت وحدات تسمى سداسيات Hexamers (حلقات مفتوحة)، وحيث إن بعض تحت الوحدات هذه تكون مرتبة في خماسيات وبعضها الآخر في سداسيات، فإنه لا يمكن أن تكون متساوية التناظر Equivalent، ولكنها تكون شبه مناظرة Quasiequivalence. والطريقة التي بها يمكن تقسيم الأوجه المثلثة من سطح الإيكوزاهيدرون إلى مثلثات متماثلة التناظر المتساوي تحميها قوانين هندسة الجوامد حيث يحسب ذلك من المعادلة: $T = Pf^2$ حيث T هي عدد التثليث، وهو ما يساوي عدد المثلثات الصغيرة متساوية الأضلاع، أما f فقد تكون أي رقم مثل: ١، ٢، ٣، ٤....إلخ.

وتستخرج P من العلاقة: $P = h^2 + hk + k^2$، إذ تكون k و h أي زوج من المتكاملات التي ليس بينهما عامل مشترك، وقد وجد أن قيمة P في الفيروسات التي درست قد تكون:

١ (حيث h = ١، k = صفر)؛ ٣ (حيث h = ١، k = ١)، ٧ (حيث h = ١، k = ٢).

ويوضح الجدول رقم (١) قيمة T:

الجدول رقم (١). قيمة T مع أمثلة للفيروسات:

P	f	$T(Pf^2)$	عدد تحت الوحدات	المثـــال
	١	١	٦٠	مذنب فيروس نخر التبغ Tobacco necrosis satelite virus
١	٢	٤	٢٤٠	الصدفة الداخلية لفيروس ريو Inner shell of Reo virus
١	٣	٩	٥٤٠	الصدفة الخارجية لفيروس ريو outer shell of Reo virus

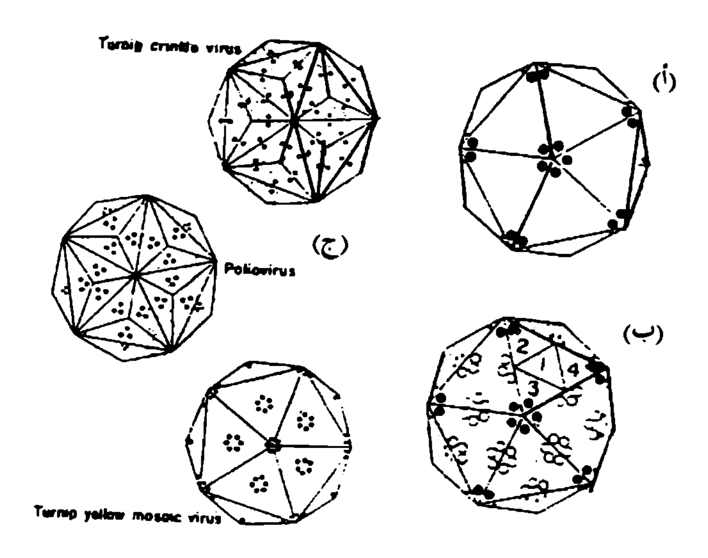
تابع الجدول رقم (١).

P	f	$T(Pf^2)$	عدد تحت	المثـــال
١	٤	١٦	٩٦٠	فيروس القوباء Herpes virus
١	٥	٢٥	١٥٠٠	فيروس أدنو Adeno virus
٣	١	٣	١٨٠	فيروس التبرقش الأصفر في اللفت Turnip yellow mosaic virus فيروس شلل الأطفال Polio virus
٧	١	٧	٤٢٠	فيروس التألل في الإنسان والأرنب (الورم الحلمي) Human and rabbit papilloma virus

(٤,٦) تشكيلات الوحدات المورفولوجية Clustering of Morphological Units

توجد ثلاثة أنواع من التشكيلات يمثلها فيروس شلل الأطفال Poliovirus وفيروس تجعُّد اللفت Turnip crinkle virus وفيروس التبرقش الأصفر في اللفت Turnip yellow mosaic virus (TYMV) وكل منها يحتوي على ١٨٠ وحدة (أي أن T = ٣) (انظر الشكل رقم ٢٠).

ففي فيروس شلل الأطفال، تتشكل تحت الوحدات قرب مراكز المثلثات معطية ٦٠ وحدة مورفولوجية، أما فيروس تجعد اللفت، فإن تحت الوحدات فيه تتشكل قرب الحواف معطية ٩٠ وحدة مورفولوجية، على حين أن فيروس التبرقش الأصفر في اللفت تتشكل فيه تحت الوحدات في ٢٠ سداسية (أي ١٢٠) واثنتي عشرة خماسية (أي ٦٠) أي أن المجموع يكون ١٨٠ من تحت الوحدات.



الشكل رقم (٢٠). ترتيب ٦٠ن من تحت الوحدات المتطابقة على سطح إيكوزاهيدرون:
(أ) ن = ١وتتوزع ٦٠ تحت وحدة بحيث توجد وحدة واحدة على سطح كل مثلث كما يلاحظ أن لكل تحت وحدة الترتيب نفسه بالنسبة لمتجاوراتها بحيث تكون متكافئة.
(ب) ن = ٤. وكل وجه مثلث ينقسم إلى أربعة أصغر، ولكن المثلثات وتحت الوحدات المتكافئة تكون واقعة عند القمم.
(جـ) طرق مختلفة لتشكيل الـ ١٨٠ تحت وحدة على فيروس تجعد اللفت Turnip crinkle virus، وفيروس شلل الأطفال Poliovirus ، وفيروس التبرقش الأصفر في اللفت Turnip yellow mosaic.

(٤,٦,١) فيروسات بها أكثر من نوع واحد من تحت الوحدات

Viruses with more than one type of subumits

يشبه اللاقم آر -١٧ (R-17) فيروسات النبات الثلاث السابق ذكرها من حيث إنه يحتوي على ح ن ر RNA ، وأنه مشيد من ١٨٠ تحت وحدة بروتينية متماثلة ، إلا أن اللاقم آر - ١٧ (R-17) يحتوي على جزيء واحد لكل فيريون من بروتين آخر هو بروتين A والذي يتصل به ح ن ر.

وحيث إن بروتين A يشترك في عملية اتصال الفيروس بالبكتيريا الحساسة فلا بد أن يكون موضعه على سطح الفيروس.

ولو حدث وكان اللاقم آر ١٧ (R - 17) مبنيًا مثل فيروس التبرقش الأصفر في اللفت (TYMV) من ٣٢ كابسومير، لكان من المستحيل وضع بروتين A في غطائه، أما الغطاء المكون من ١٨٠ تحت وحدة بروتين، فيمكن أن تترتب فيه ٦٠ من الثلاثيات Trimers، علمًا بأن الوزن الجزيئي لكل ثلاثية = ٣٩,٧٥٠ دالتون وهو مايساوي تقريبًا الوزن الجزيئي للبروتين (٤٠٠٠٠ دالتون).

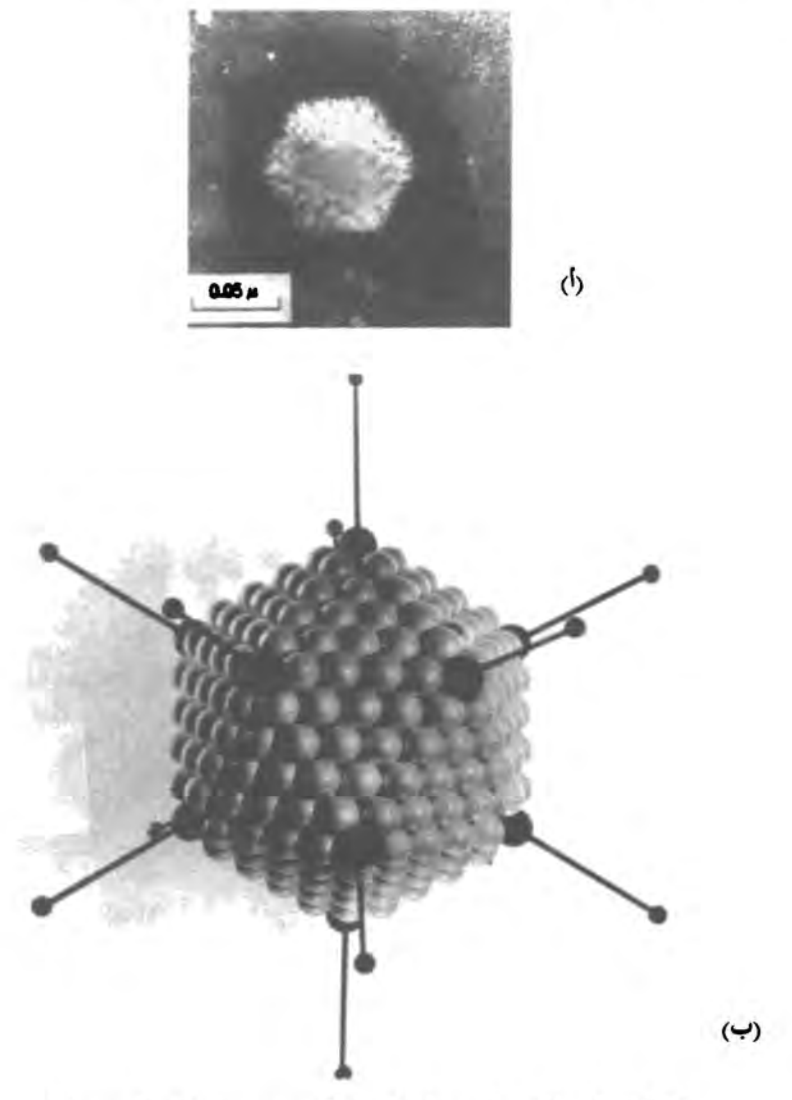
لذا يستطيع أن يحل بروتين A محل ثلاثية من غطاء البروتين شريطة أن يعمل على تسوية احتياجات الروابط من الثلاثية المفقودة علاوة على رابطة تشبكه مع ح ن ر، وبذلك يستطيع بروتين A أن يكون قادرًا على التفاعل مع موضع الاستقبال Receptor site على الخلية.

وبدلاً من ذلك، اقترح نموذج آخر تترتب فيه تحت الوحدات في تساعيات Nonagons، توجد تساعية على كل وجه من الإيكوزاهيدرون، أما بروتين A فإنه يوضع على الأركان Vertices كل ركن يكون محوّطًا بخمسة تساعيات كل واحدة على وجه مجاور من الإيكوزاهيدرون. ومن ميزات هذا النموذج أن بروتين A لا يحتاج لأن يحل محل أي من تحت وحدات البروتين. وقد أيدت بعض الصور الإلكترونية هذا النموذج.

(٤,٦,٢) فيروس أدنو Adeno virus:

إن الفحص الدقيق للصور الإلكترونية لفيروس أدنو (T = ٢٥) تبين أن ١٥٠٠ تحت وحدة تترتب في ٢٤٠ سداسية (Hexamer) و١٢ خماسية (Pentamer) وأن إثنتي عشرة ليفة Fibers (شوكة Spike) تخرج من أركان Vertices الإيكوزاهيدرون، ويمكن توضيح أن الألياف والسداسيات والخماسيات من أنواع مختلفة من البروتينات

وذلك بوساطة الاختبارات المصلية Serological tests. ولترتيب ذلك على سطح الإيكوزاهيدرون، توضع الخماسيات (خارجًا منها الألياف) على الأركان، بينما تقع السداسيات على أوجه الإيكوزاهيدرون العشرين (الشكل رقم ٢١).



الشكل رقم (٢١). (أ) صورة بالمجهر الإلكتروني و(ب) نموذج لفيروس أدنو.

أما لاقم البكتيريا فاي إكس - ١٧٤ (ϕx-174)، فإنه يشبه في ترتيب تحت وحداته نفس نظام فيروس أدنو مع اختلاف في الحجم، كون الأشواك أقصر.

(٤,٦,٣) فيروس ريو Reovirus:

من أنواع الترتيب المختلفة ما وجد في قسم آخر من الفيروسات الكروية وهي فيروسات ريو Reoviruses، إذ إن الغطاء Capsid ينبني من ثمانية أنواع من البروتينات تترتب في دائرتين أو حلقتين Rings أي غطاءين أو صدفتين Shells (لاحظ أن هذه صفة مميزة لهذه الأنواع، فقط، من الفيروسات) ولكل من الصدفتين تماثلاً إيكوزاهيدراليًا. وتترتب ثلاثة أنواع من البروتينات في الصدفة الخارجية وخمسة في الصدفة الداخلية تتشكل في ٣٢ كابسوميرة في الحلقة الخارجية و ٩٦ في الحلقة الداخلية.

(٤,٧) تماثل الفيروسات الثنائية Symmetry of Binal Viruses

تتكون هذه الأنواع من الفيروسات من جزءين، أحدهما مكعبي والثاني أسطواني، ويكون للجزء المكعبي تماثل أيكوزاهيدرالي، أما الجزء الأسطواني فيكون تماثله حلزونيًا؛ مثال ذلك لاقمات البكتيريا SP50,T6,T4, T2 Bactreiophages واللاقم لامدا (λ).

الفصل الخامس

التركيب الكيميائي للفيروسات

CHEMICAL STRUCTURE OF VIRUSES

إن عدة مئات من الفيروسات التي تسبب أمراضًا أصبحت معروفة، ولكن قليلاً منها، نسبيًا، تلك التي درس تركيبها الكيميائي بدقة. ويرجع السبب في ذلك إلى أنه لا يمكن إجراء عديد من التجارب على هذه الفيروسات دون الحاجة لمعرفة المعلومات عنها كافة وخاصة الكيميائية. كما أن الدراسة الدقيقة تستلزم لها الحصول على الفيروسات في حالة نقية تمامًا، علاوة على أن التحليل الكيميائي الكامل لأي فيروس يعد عملية مطولة ومملة جدًا. إن دراسة التركيب الكيميائي ذات أهمية قصوى بالنسبة لكثير من الأبحاث وخاصة الطبية منها وما يتعلق منها بتصنيف الفيروسات والأحياء الجزيئية ووراثة الفيروسات، وللهندسة الوراثية.

لقد أثبتت التجارب أن فيروس تبرقش التبغ TMV النقي يتكون، فقط، من البروتين النووي Nucleoprotein الذي هو ارتباط نوعي بين البروتين والحامض النووي (وينطبق هذا على عديد من الفيروسات الأخرى)، بينما تحتوي الفيروسات الأكثر تعقيدًا، خاصة تلك التي تكتسب غلافًا Envelope من أغلفة الخلية وتتبرعم Bud (أي تخرج) من خلال الأغشية، على بعض مكونات الخلية في أغلفتها.

إذن، فجميع أنواع الفيروسات تتكون كيميائيًا من حامض نووي وبروتين، وللأول الأهمية الأساسية، إذ أنه هو الذي يحدد كل صفات الفيروس وطبيعته، وهذا الحامض النووي لا بد أن يكون نوعًا واحدًا، إما ح ن د (DNA) أو ح ن ر (RNA). ولا يمكن أن يوجد النوعان معًا كما هو الحال في كل الكائنات الخلوية.

ويغلف البروتين الحامض النووي لحمايته من الإنزيمات محللة الحامض النووي أي من النيوكليزيس Nucleases ومن العوامل البيئية الأخرى.

(٥,١) البروتين الفيروسي Viral Protein:

(٥.١.١) تركيب البروتين الفيروسي:

إن تركيب البروتين عامة، بما فيه البروتين الفيروسي، يكون مشتملاً على أربع صور للتراكيب.

(٥,١,١,١) التركيب الابتدائي Primary strcutre :

يتكون البروتين، أساسًا، من حموض أمينية Amino acids ترتبط معًا عند مجموعات الأمين Amino groups (NH_2) من حامض ومجموعة الكربوكسيل COOH من الحامض الثاني مكونًا رابطة ببتيدية Peptide bond. ومن تجميع الببتيدات معًا، يتكون عديد الببتيد Polypeptide في صورة سلسلة، وقد يتكون من سلسلتين أو أكثر مشكلاً جزيء البروتين، وقد ترتبط بعض الحموض الأمينية في بعض مواضع، بين السلسلة أو دائمًا بين السلسلتين بروابط ثنائية الكبريت Disulfide bonds وخاصة بين الحموض الأمينية سستين وسيستاين Cystine-cysteine. وقد استطاع فرينكل كونرات Fraenkel Conrat وتسوجيتا Tsugita سنة ١٩٦٠م تحليل التركيب الأولي، أي تتابع الحموض الأمينية لبروتين فيروس تبرقش التبغ.

(٥,١,١,٢) التركيب الثانوي Secondary structure:

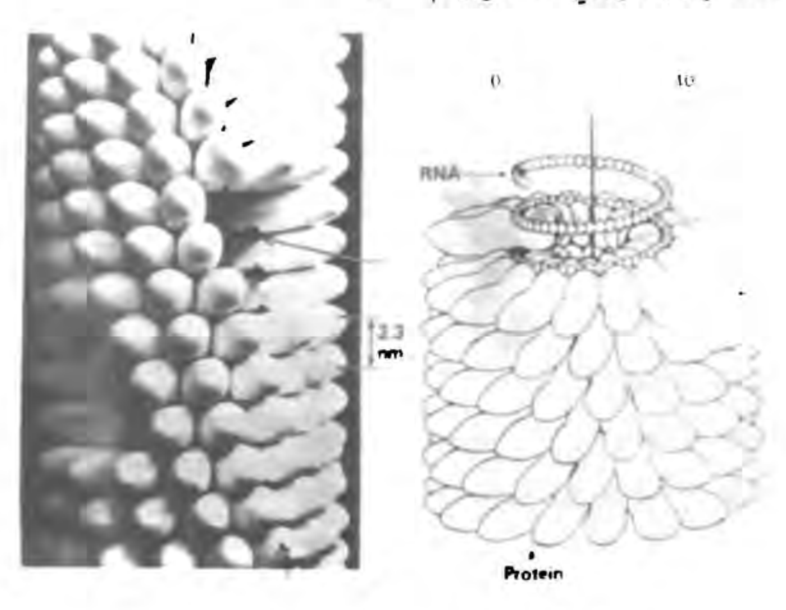
هو التشكيل الهندسي Geometrical configuration لسلسلة الببتيد (أو السلاسل) مع الإشارة لوجود التركيب الحلزوني أو غيابه، وأغلب هذا التركيب يتبع حلزون ألفا helix - α ويفضل التركيب الحلزوني بتكوين روابط هيدروجينية بين مجموعات CO-NH المتجاورة.

(٥,١,١,٣) التركيب الثالثي Tertiary structure:

هو نظام طي Folding سلسلة عديدة الببتيد كما يتضح من الدراسة بأشعة إكس.

(٥,١,١,٤) التركيب الرابعي Quaternary structure:

هو الوحدات البروتينية المتكررة والعلاقات الفراغية بينها ويوضح نموذج TMV هذا التركيب الرابعي (الشكل رقم ٢٢).



الشكل رقم (٢٢). التركيب الرابعي لفيروس تبرقش التبغ TMV.

(٥,١,٢) تحضير البروتين الفيروسي:

لدراسة بروتين الفيروس، يلزم أن يكون نقيًّا، وأن يفصل عن الحامض النووي. ويسهل ذلك مع الفيروسات التي تحتوي على نوع واحد من البروتين، بينما يصعب في وجود أكثر من نوع من البروتين أو في حالة وجود تراكيب كيميائية أخرى غير البروتين النووي. وأول خطوة في فصل البروتين هي تفكيك التركيب الرابعي

فيتحرر البروتين. وأكثر الطرق شيوعًا هي القلوي و/أو المنظف Detergent، كما أن مواد أخرى مثل البولينا Urea والفينول والجوانين هيدروكلوريد Guanine-HCl كان استخدامها ناجحًا في بعض الحالات.

(٥,١,٢,١) طريقة القلوي لفرينكل – كونرات Alkali method of Fraenkel-Conrat:

وجد فرينكل - كونرات ووليامز سنة ١٩٥٥م أن تعريض فيروس تبرقش التبغ TMV إلى القلوي البارد المخفف بين أس هيدروجيني ١٠ - ١٠,٥ يحرر البروتين في صورة خماسيات أو سداسيات من تحت وحدات البروتين التي يتراوح وزنها الجزيئي بين ٩٠ - ١٠٠ ألف، وقد سماها سكرام Schram بروتين A. في الوقت نفسه، يتحلل ح ن ر (RNA) بالقلوي مائيًا Hydrolytically معطيًا قطعًا صغيرة، وتماثل نوعية بروتين A، تمامًا، البروتين الطبيعي Native الموجود في الدقائق الفيروسية التي استخدمت في التحليل لدرجة أنه لو خلط مع ح ن ر لاستعاد تركيب Reconstitution الفيروس أشكالاً عصوية مشابهة تمامًا للفيروس الأصلي. ومن المواد المستخدمة في التحليل القلوي الصودا الكاوية والبورات Borate، والكربونات Carbonates والجليسرين، شريطة أن تكون موجودة في محاليل منظمة Buffers. وقد وجد نيومارك ومايرز New Mark & Myers سنة ١٩٥٧م أن الإيثانول أمين Ethanolamine (كحول أميني) أكثر فعالية. والطريقة كما يلي:

١ - يوضع محلول مائي به نحو ١٠ مليجرامات/مل في كيس سيلوفان وتعمل له ديلسة Dialysis (أي فصل غشائي) عند درجة ٤°م في ٠,١ عياري منظم كربونات (٢,٢جم كربونات صوديوم في لتر ماء، ويضبط الأس الهيدروجيني إلى ١٠,٥ بإضافة بيكربونات الصوديوم) لمدة تتراوح مابين ٢ - ٥أيام وبديلاً لذلك يستخدم ٠٢, عياري إيثانول أمين، إذ تتم الديلسة في ٢ - ٤ ساعات.

٢ - يفصل الفيروس، وذلك بوساطة قوة الطرد المركزي عند ٦٠,٠٠٠ - ١٠٠,٠٠٠ من الجاذبية الأرضية، لمدة ساعة ثم يستبعد الراسب (Pellet) ويضاف للرائق

(Supernatant) حجم واحد من كبريتات الأمونيوم، ثم يفصل الراسب بالطرد المركزي عند ٥٠٠ لفة/دقيقة لمدة ٣٠ دقيقة ويذاب الراسب في الماء ثم يعاد ترسيبه بكبريتات أمونيوم ٠،٣٣ مرتين، ثم يعمل ديلسة عند درجة ٤° م بالماء ثم يضبط المحلول عند أس هيدروجيني ٧ - ٨ باستخدام الصودا الكاوية المخففة وتدار بالطرد المركزي عند ٦٠ - ١٠٠ ألف جرام لمدة ساعة لإزالة الدقائق الكبيرة.

٣ - يحفظ المحلول في الثلاجة بعد إضافة قطرة أو اثنتين من الكلوروفورم للمساعدة على حفظه.

٤ - يقاس على جهاز مقياس الضوء الطيفي عند ٢٦٠/٢٨٠ نانومترًا معطية نسبة = ٢ أو أكثر اعتمادًا على محتوى التربتوفان والتيروسين في البروتين. ويستخدم البروتين الناتج في التحليل إلى الحموض الأمينية التي يتكون منها مستخدمين الفصل اللوني على الورق Paper chromatography بعد التحليل المائي Hydrolysis للبروتين بإضافة حامض يد كل(HCl) ٦ع (6N)ثم تسخينه عند ١١٠- ١٢٠° م لمدة ٢٤ ساعة في أنبوبة زجاجية مقفولة بعد سحب الهواء منها (بعض الحموض الأمينية تفقد بهذه الطريقة). أو تحلل المجاميع الطرفية End groups وذلك بوساطة إنزيم كاربوكسي ببتيديز أ أو ب أو ج Carboxy peptidase A or B or C .

(٥،١،٢،٢) استخدام الفصل الكهربائي على هلام عديد الأكريلاميد (الجل) : polyacrylamide gel electropheresis (PAGE)

يمكن بهذا تحديد عدد أنواع عديدات الببتيد التي يتكون منها البروتين، كما يمكن عن طريق هذه التقنية مع نظام دوديسيل كبريتات الصوديوم Sodium dodecyl sulpate أي SDS-PAGE تفكيك Dissociate الروابط التي تربط بين سلاسل عديدة الببتيد في جزيء البروتين. وقد وجد أن الوزن الجزيئي لتحت وحدات البروتين فيTMV = ١٨٠٠٠ دالتون.

(٥,١,٣) وظائف بروتينات الفيروس Functions of Viral Proteins:

إن أكثر كتلة الدقيقة الفيروسية هو بروتين قد يصل وزنه إلى ٩٩٪. وتتلخص بعض وظائف البروتين فيما يلي:

(٥,١,٣,١) يحمي بروتين العلبة (أو الغطاء Capsid) الحامض النووي الفيروسي الذي يستقر عميقًا بداخله وتكون هذه الحماية ضد تكسير الحامض النووي بوساطة الإنزيمات المحللة Nucleases وكذا ضد التغيرات البيئية.

(٥,١,٣,٢) يعطي الفيروس شكله الظاهري وبناءه المعماري الثابتين.

(٥,١,٣,٣) وسيط في عملية الإصابة Intermediates in the process of infection. كما أنه كثيرًا ما يحدد تخصص الفيروس للعائل وذلك عن طريق عملية اتصال attachment الدقيقة الفيروسية بمكان الاستقبال Receptor site على سطح الخلية العائلة (كل الفيروسات ماعدا النباتية). ويؤدي هذه الوظيفة بروتين الألياف في بعض لاقمات البكتيريا مثل T4, T2، أما لاقمات البكتيريا الكروية (المكعبة) R17, F2, F6, - ϕx-174، فيوجد في غطائها بروتين خاص لهذا الاتصال. يتميز فيروس شلل الأطفال Polio بأن إصابته تقتصر، فقط، على الأوالي Primates كالإنسان والقردة، فإذا أزيل البروتين واستخدم المورث ح ن ر (RNA) المستخلص من فيروس شلل الأطفال بعد وضعه في مثانات من الدهون Liposomes، فإنه يمكن أن يتخطى حاجز التحديد Restriction في الإصابة ويستطيع أن يصيب الفئران والأرانب وخنازير غينيا Guinea pigs والهامستر Hamester والدجاج عن طريق حقنها في المخ Intracerebrally. وقد يوجد على سطح الدقيقة الفيروسية بروتين خاص بعملية الاستقبال. أما في الفيروسات المغلفة، فيقوم بذلك زوائد أو أشواك تخرج من الغلاف، فإذا كانت الأشواك أكثر من نوع يتخصص نوع واحد، فقط، للاتصال.

(٥,١,٣,٤) أنتيجينات Antigens (مستضدات، مولدات الضد): تعد الفيروسات أنتيجينات (أجسامًا غريبة Foreign bodies) قوية وذلك راجع، أساسًا، لوجود بروتينات الغطاء أو إلى البروتين الدهني (الليبوبروتين) Lipoprotein أو البروتين السكري

(الجليكوبروتين) Glycoprotein الموجودة على غلاف الدقيقة الفيروسية. وعندما تدخل هذه الفيروسات داخل جسم حيوان فقاري كإصابة طبيعية أو عن طريق الحقن المعملي، فإن الجهاز المناعي للحيوان يُكوّن أجسامًا مضادة Antibodies نوعية تعادل Neutralize وتضاد تأثير هذه الفيروسات (الأجسام الغريبة) التي استخدمت في تكوينها. ويفقد تفاعل الأجسام المضادة نوعيًّا مع الأجسام الغريبة الأخيرة تأثيرها. ويعد تكوين أو وجود الأجسام المضادة المختلفة داخل جسم الكائن جزءًا من المناعة ضد الأمراض الفيروسية أو نتيجة للإصابة أو تكرار الإصابة بها. وتعد الأمصال المضادة "Antisera" (وهي سوائل البلازما وما تحتويه من أجسام مضادة للفيروسات)، وسيلة مهمة في التعرف على الفيروسات وطريقة قاطعة في تشخيص الأمراض الفيروسية. ويرجع ذلك إلى أن أنتيجينات كل فيروس تكون نوعية وخاصة، فيما عدا وجود بعض الأنتيجينات العامة التي تشترك فيها مجموعة معينة أو عائلة دون غيرها من الفيروسات. ومن شدة حساسية هذا الاختبار المصلي Serological test أنه يمكن - عن طريقه - التفريق بين الفيروسات على مستوى العائلة أو الجنس أو النوع أو حتى السلالة أو الطفرة. وتوجد تقنيات تطور باستمرار لزيادة فاعلية حساسية هذه الاختبارات، خاصة أنها تعد الوسيلة الأولى أو الأساسية لتشخيص Diagnosis المرض الفيروسي أو للتعرف على الفيروس معمليًّا.

(**٥,٣,١,٥**) بروتينات بعض الفيروسات تلزن كرات الدم الحمراء **Some viral proteins haemagglutinate red blood cells**: تسبب بعض الفيروسات تكتلاً Clumping وتجمعًا Aggregation لخلايا الدم الحمراء .R.B.C في صورة تشابك Lattice متصل ونوعي. وتسمى هذه الخاصية التلزن الدموي Haemagglutination، وذلك نتيجة شبك مواضع معينة من الفيروس بمواضع استقبال لها على خلية الدم الحمراء ومن ثم، تكون نظامًا شبكيًّا Network، ويمكن أن ينقسم تلازن الفيروسات إلى الأنواع التالية:

(أ) بعض الفيروسات تحتوي في غلافها على أشواك تلزن Haemagglutinin spikes (HA) مثل الإنفلونزا ونيوكاسل (شوطة الدجاج) Newcastle disease، والحصبة Measles، والغدة النكفية Mumps، وطاعون البقر Rinderpest.

(ب) تعد كل الدقيقة الفيروسية ملزنًا كما في فيروسات سندبيس Sindbis، وإسهال الأطفال Rota، وطاعون الخيل الإفريقي African Horsesickness، ومرض اللسان الأزرق في الغنم Blue tongue disease of sheep .

(جـ) يسبب التلازن مكونًا داخليًا للدقيقة الفيروسية مثل الفوسفوليبيد السائل المستخلص من فيروس جدري الأبقار Vaccinia (وهو نوع من الجدري يصيب الإنسان وربما يكون سلالة من جدري البقر).

(٥,١,٣,٦) بروتينات بعض الفيروسات عبارة عن إنزيمات Some viral prteins are enzymes: كثير من الفيروسات مثل فيروسات الجدري وغيرها تحتوي على إنزيمات نوعية أهمها إنزيمات النسخ Transcriptases والتكاثر Replicases والإنزيمات محللة الحموض النووية Nucleases وإنزيمات التفسفر Phosphokinases إلخ. وكل هذه الإنزيمات بروتينات تركيبية Structural proteins ومع هذا، فإن كثيرًا من الفيروسات تخلق عديدًا من الإنزيمات غير التركيبية Non - structural enzymes والتي تؤدي دورًا مهمًّا في الخلية المصابة وخاصة أثناء تكاثر الفيروس وتجميعه أو في مراحل مختلفة من التكاثر أو التجميع. ويوجد من الإنزيمات الفيروسية التركيبية نوعان:

(أ) إنزيمات تكسر Degrade غشاء Membrane أو جدار Wall الخلية العائلة مثل نيوراميديز Neuraminidase الموجود على سطح فيروس الإنفلونزا وإنزيم التحلل Lysozyme في بعض لاقمات البكتيريا (مثل T4, T2).

(ب) إنزيمات تشارك في تخليق الحامض النووي مثل إنزيم نسخ ح ن ر RNA-transcriptase في فيروسات ريو، وإنزيم بلمرة ح ن ر RNA-polymerase كما في فيروس الحصبة، وإنزيم النسخ العكسي Reverse transcriptase في فيروس سرطان راوس Rous sarcoma الذي يصيب الدجاج وفيروس إتش. آي. في (HIV-1) الذي يسبب الايدز AIDS في الإنسان.

(٥,١,٣,٧) بعض الفيروسات تسبب تحلل كريات الدم الحمراء Some viruses cause Haemolysis: ينتج عن تحلل الدم Haemolysis تكسير كرات الدم الحمراء مع تحرر

الهيموجلوبين ، وعندما يحدث التحلل الدموي خلال أوعية الدم ، فإن الجسم لا يستطيع أن يسترجع الهيموجلوبين الذي يفقد عن طريق الكلى ويضفي على البول لونًا أحمر "احمرار البول Haemoglobinuria". ويسبب فيروس الجدري وغيره تحللاً دمويًا للمصابين *in vivo*. أما في الاختبار المعملي *in vitro* ، فإن فيروسات سنديس ، والحصبة والغدة النكفية وغيرها فكثيرًا ما تسبب تحللاً لكرات الدم الحمراء. ويمكن أن يعزى التحلل الدموي لبعض الإنزيمات والبروتينات السكرية و (الجليكوبروتين) الفيروسية والتي تحطم البروتين الهلامي الموجود به سكر سياليك Sialomucoprotein ، وهو نوع من الجليكوبروتين الموجود في تركيب كريات الدم الحمراء ، ويسمى البروتين الذي يكسر كرات الدم الحمراء ، محلل كرات الدم الحمراء Haemolysin ، والذي قد يكون أحد النشاطات الحيوية لشوكة تخرج من غلاف الفيروس.

(٥,١,٣,٨) بعض البروتينات الفيروسية تسبب اندماجًا خلويًا Some viral proteins cause cell fusion : تحدث بعض الفيروسات دمجًا للخلايا ، خاصة تلك التي تتبع عائلة باراميكسو Paramyxoviridae مثل فيروس سينداي Sendai والحصبة Measles والطاعون البقري Rinderpest والغدة النكفية Mumps وفيروس الدمج الخلوي Respiratory (R.S.V) syncytial virus ، وفيروسات عائلة القوباء Herpersviridae. ولكن أشهر هذه الفيروسات ، الذي يستخدم على نطاق واسع ، هو فيروس سينداي. وظاهرة الدمج الخلوي Cell fusion تسببها أشواك البروتين السكري (Glycoproteins) الموجودة على سطح الفيروس ، فتؤدي إلى انصهار التكوينات الدهنية لأغشية الخلايا التي تصيبها والتي تجاورها ، فتندمج الأغشية معًا مكونة بذلك كتلة بروتوبلازمية واحدة لخلية كبيرة أو عملاقة Mega or giant cell تحتوي على العديد من الأنوية Multinucleated ، وهي خلايا يطلق عليها عديدة المجموعة الصبغية Polykaryocytes أو ما يسمى المدمج الخلوي Syncytium ، (جمع المدمجات الخلوية : Syncytia). ويمكن أن يحدث الدمج الخلوي من الداخل From within ، عندما يتكاثر الفيروس في الخلية المصابة ويؤدي خروج الفيروسات منها إلى دمج الخلايا المحيطة أو يحدث من الخارج From without عندما توضع الفيروسات (الحية أو غير الحية)

وأشواكها على الخلايا وكذلك قبل اكتمال الإصابة. ولا تتوقف قدرة الفيروس على إحداث الدمج الخلوي على وجوده كاملاً أو معديًا، إذ إن أشواك الدقائق الفيروسية، أو الدقائق الناقصة أو الفارغة أو تلك المقتولة بالأشعة فوق البنفسجية، يكون لها القدرة على إحداث الدمج الخلوي ويستفاد من هذه الظاهرة :

١ - في التهجين الخلوي الجسدي Somatic cell hybridization : والذي يمكن أن يؤدي إلى ظهور خلايا هجين متباينة الأنواع Heterokaryon مثل التهجين بين خلايا الإنسان والفأر أو أن تكون هجينًا من نوع الكائن نفسه، وتستخدم هذه الطريقة في دراسة الوراثة الخلوية الجسدية.

٢ - تستخدم في إنقاذ الفيروس Virus rescue ، خاصة ذلك الفيروس الذي يحدث إصابة في خلايا معينة ويتكاثر فيها لكنه لا يظهر فيها تأثيرًا مرضيًا ولا يقتلها ؛ لأنها خلايا غير سامحة Non-permissive ، عندئذ، لبيان تكاثر الفيروس أو وجوده فيها، فإنها تخلط مع خلايا سامحة Permissive فيتكون مدمج خلوي يتكاثر فيه الفيروس ويستطيع أن يتحرر بعد أن يقتل الهجين الجديد.

٣ - تستخدم لإنتاج خلايا هجين سرطانية Hybridoma وخاصة خلايا ليمفاوية سرطانية من نخاع العظام تسمى ميلوما Myeloma. فمن المعروف أنه عند تحصين Immunization الحيوان، تستحث فيه خلايا ليمفاوية من الجهاز المناعي لها القدرة على تخليق أجسام مضادة يمكنها عزل هذه الخلايا فيما بعد، لكن هذه الخلايا لا يمكن أن تعيش إلا لبضعة أيام عند زراعتها على وسط غذائي صناعي. ومع ذلك، فإن الخلايا الليمفاوية السرطانية (ميلوما) تكون قادرة على إنتاج الجلوبيولينات المناعية Immunoglobulins (الأجسام المضادة Antibodies) ، فعند دمجها مع خلايا ليمفاوية عادية، تنتج الأجسام المضادة بعد التحصين، إذ أن خلايا ميلوما تعطي هجينًا سرطانيًا Hybridoma يحمل صفات الأبوين، وهذه الخلايا السرطانية (هيبريدوما) تنتخب لإنتاج أنواع خاصة ومحددة ونقية من أجسام مضادة وحيدة النسيلة Monoclonal antibodies.

(٥,٢) الحامض النووي الفيروسي Viral Nucleic Acid

١ - قلنا سابقًا إن المكون الأساسي الأول للفيروس هو الحامض النووي. وسميت الحموض كذلك لأنها حامضية، وعزلت لأول مرة من أنوية الخلايا، والمعروف، حاليًا، أن الحموض النووية توجد في النواة والسيتوبلازم. وتنقسم الحموض النووية إلى نوعين رئيسيين: أولهما هو الحامض النووي دي أوكسي ريبوزي (ح ن د) (أي به سكر ريبور منزوع الأوكسيجين)، ويعد هو المادة الوراثية الوحيدة في كل الكائنات الخلوية شريطة أن يكون مزدوج الخيط Double-stranded، وكذلك في بعض أنواع الفيروسات يكون إما مزدوج الخيط وإما مفرد الخيط Single or double stranded. والثاني هو الحامض النووي الريبوزي (ح ن ر) Ribonucleic acid (RNA)، والذي يوجد منه ثلاث صور في جميع أنواع الخلايا هو ح ن ر مرسال (رسول)Messenger RNA (mRNA) الذي يحمل الرسالة الشفرية الوراثية Coded genetic message المنسوخة Transcribed من ح ن د، والتي تترصص عليها عضيات الريبوزومات Ribosomes في السيتوبلازم.

٢ - كل ريبوزوم يحتوي على جزيء من الحامض النووي ح ن ر يسمى ح ن ر الريبوزومي Ribosomal RNA (r.RNA)، والذي يساعد على تخليق البروتين Protein synthesis عندما يترصص على جزيئات ح ن ر المرسال في عملية ترجمة Translation دقيقة للشفرات الوراثية Genetic codes المحمولة على الرسالة الشفرية (ح ن ر مرسال) والمنسوخة تمامًا من ح ن د.

٣ - يساعد في عملية تخليق البروتين نوع ثالث من ح ن ر ذلك هو ح ن ر الناقل Transfer RNA (t.RNA)، والذي توجد منه أنواع تتخطى العشرين (حسب عدد الحموض الأمينية) تنتشر ذائبة في السيتوبلازم، ولذا يطلق عليها أحيانًا ح ن ر الذائب Soluble RNA. والغريب في الأمر أن ح ن ر لا يكون أبدًا مادة وراثية في أي نوع من الخلايا، إنما يقتصر دوره على الرسالة الوراثية وتخليقها إلى بروتين، إلا أن بعض الفيروسات يوجد فيها ح ن ر المزدوج أو المفرد الخيط كمادة وراثية

وحيدة، ولذا تسمى فيروسات ح ن ر RNA-Viruses، وهذا ما يجعل هذه المجموعة من الفيروسات فريدة في مادتها الوراثية.

وتعد الحموض النووية جزيئات كبيرة Macromolecules من سلسلة أو سلاسل عديدة النيوكليوتيدات Polynucleotides، أي نيوكليوتيدات مرتبطة. ويتكون كل جزي من ثلاث مواد أساسية.

١ - سكر Sugar.

٢ - قواعد نتروجينية Nitrogenous bases .

٣ - حامض فوسفوريك Phosphoric acid.

وعندما يرتبط السكر مع القاعدة النتروجينية تسمى نيكليوسيدة Necleoside، أما إذا ارتبطت مع النيكليوسيدة مجموعة فوسفات مكونة إسترفوسفات Phosphate ester فعندئذ، تسمى نيكليوتيدة Nucleotide. والسكر الذي يدخل في تكوين الحموض النووية هو نوع السكريات الخماسية Pentose وعليه يتوقف تحديد نوع الحامض النووي، فالذي يتكون من دي ريبوز (D-ribose) يكون عبارة عن الحامض النووي الريبوزي (Ribonucleic acid (RNA. أما سكر ٢َ-دي أوكسي ريبوز 2-deoxy ribose فهو ريبوز منزوع منه ذرة أوكسيجين في موضع ذرة الكربون رقم٢َ. ومن هنا جاءت التسمية دي أوكسي، أي لا يوجد أوكسجين فيه عند ذرة الكربون رقم٢َ، وتوجد هذه السكريات في الصورة الفيورانية Furanoside structure أي الصورة الحلقية، إذ توجد ذرة الأوكسيجين بين ذرتي الكربون ١َ و ٤َ.

أما القواعد النتروجينية Nitrogenous bases فهي نوعان: في الحموض النووية الأولى بيورينات Purines والثاني بيريميدينات Primidines والبيورينات إما أن تكون أدينين Adenine ويرمز له بالرمز A وإما جوانين Guanine ويرمز له بالرمز G.

أدينين	جوانين
Adenine	Guanine
(6 - aminopurine)	(2 - amino - 6 oxypurine)

رايبوز

بيتا - ٢َ دي أوكسي رايبوز

الشكل رقم (٢٣). بيان أنواع السكر.

بيورين

بريميدين

يوراسيل (ي)

أدينين (أ)

جوانين (ج)

ثايمين (ث)

سايتوسين (س)

الشكل رقم (٢٤). بيان أنواع القواعد النتروجينية.

والبريميدينات الأساسية هي: السيتوسين Cytosine، ويرمز لها بالرمز (C)، والثايمين Thymine (2-oxy 4-amino pyrimidine) ويرمز له بالرمز (T) واليوراسيل Uracil (2.4 dioxypyrimidine)، ويرمز له بالرمز (U). كما يوجد نوعان شاذان هما ٥ - هيدروكسي مثيل سيتوسين (5-hydroxy - methylcytosine)، و ٥- هيدروكسي ميثيل يوراسيل (5-hydroxy methyl uracil) والتي تحل محل السيتوسين

في ح ن د لبعض لاقمات البكتيريا. وتسمى النيوكليوتيدات حسب قاعدة البيورين أو البريميدين.

ففي حالة ح ن ر (RNA)، تسمى حموض أدينيليك وجوانيليك وسيتيديليك ويوراديليك، ولذا فإن الأربع القواعد التي تدخل في تركيب ح ن ر (RNA) هي الأدينين والجوانين والسايتوسين واليوراسيل، أما في ح ن د (DNA) فتكون هذه القواعد هي الأدينين والجوانين السايتوسين والثيمين بدلاً من اليوراسيل في ح ن ر.

هذا إذا كان الحامض النووي خيطًا مفردًا، أما إذا كان خيطًا مزدوجًا فإن القواعد النتروجينية على أحد الخيطين تكون مكملة Complementary بالنسبة للقواعد الموجودة على الخيط المقابل وترتبط أزواج القواعد المتقابلة بروابط هيدروجينية Hyodrogen bonds، والقواعد التي تكمل وتقابل بعضها هي الأدينين مع الثيمين A = T والجوانين مع السيتوسين C=G في حالة ح ن د، أما في حالة ح ن ر فيزدوج الأدينين مع اليوراسيل U = A والجوآنين مع السيتوسين C=G ، ولذا فإن القواعد توجد في أزواج مكملة.

بناءً على ذلك، فإن عدد جزيئات قواعد A لا بد أن تساوي قواعد T وقواعد G = C = ١. وفي الحموض النووية بما فيها الفيروسية، ترتبط النيوكليوتيدات في الاتجاه 3َ ← 5َ من ذرتي الكربون في جزيء السكر، عن طريق رابطة فوسفات ثنائي الإستر.

(٥,٢,١) تحضير الحامض النووي الفيروسي Preparation of Viral Nucleic Acid

(٥,٢,١,١) طريقة فرينكل – كونرات المحورة سنة ١٩٥٧م:

وفيها يمكن تحضير ح ن ر (RNA) لفيروس تبرقش التبغ TMV وبعض الفيروسات المشابهة. ويسخن فيها ٢٠ مجم/مل من الفيروس النقي في الماء عند درجة حرارة ٥٥° م في حمام مائي على أن يضبط الأس الهيدروجيني عند ٨,٨ بوساطة

الصودا الكاوية المخففة ويخلط بالحجم نفسه من دوديسـيل فوسفات الصوديوم (SDS) بعـد أن يضبـط الأس الهيدروجيـني إلى ٨,٨ عنـد ٥٥° م). ويظـل هـذا الخليـط مـدة ٥ دقائـق، إذ يفقد المخلوط عتامته Opalescence، بعـد ذلك، تخفض درجة حرارتـه بسرعة حتى درجة حرارة الغرفة (٢٣° م)، ثم يضاف ٥, حجم من كبريتات الأمونيـوم ويعد نحو ١٠ دقائق، يرسب البروتين عند ٥٠ - ١٠٠ ألف لفة في الدقيقة بجهاز الطرد المركزي، ويخزن الرائق عند درجة ٤° م لمدة يوم. وينتج عن ذلك ترسب لـ ح ن ر الذي يجمع بالطرد المركزي كراسـب، ثـم تعـاد إذابته في حجـم قليـل مـن الماء ويرسـب ثانية بإضافة حجمين من الكحول ويكرر هذا مرتين، ثم يدار عند طـرد مركـزي قـدره ١٠٠ ألف لفة/دقيقة.

(٥,٢,١,٢) طريقة سميث سنة ١٩٦٠م للحصول على ح ن د فـيروس بوليومـا Polyoma virus DNA:

يضاف حجمان متسـاويان مـن الفيروس و ١٠٪ SDS في أس هيدروجيـني٧، ويسخن لمدة ساعتين عند درجة ٦٥° م، وبعـد إضافة خـلات الأمونيـوم (١,ع= 0.1N) يترسـب ح ن د بإضافة حجمـين مـن الإيثانول ويـذاب الراسـب في (١,ع= 0.1N)مـن خلات الأمونيوم ويرسب بالكحول وتكرر عملية الإذابة والترسيب مرتين.

(٥,٢,٢) تحليل القواعد النتروجينية للحامض النووي by acid hydrolysis & paper chromatography

(٥,٢,٢,١) تحليل ح ن ر RNA:،

(أ) بالتحـلل الحامضـي وكرومـاتـوجـراف الـورق by acid hydrolysis & paper chromatography: يضاف ١٠ مليجرام /مل إلى ١ ع حامض HCl، وتسخن عند درجة حرارة ١٠٠° م في حمام مائي يغلي.

(ب) يحمل ١٠ ميكروليتر تحتوي على ٢٠٠ ملّيجرام ح ن ر (RNA) يوزع على شريط مستطيل في حجم ٠,٥ سم × ٥ سم، ثم تفصل إما تصاعديًا Ascending وإما تنازليًا Descending على ورق الكروماتوجراف باستخدام ٧٠٪ بيوتانول رباعي Tetra-butanol في الماء المحمض ٧٠٠ سم بيوتانول + ١٣ سم٣ HCl يغلي + ١٧ سم٣ ماء. بعد الفصل، يجف الورق في الهواء وتحدد مواضع القواعد بفحصها تحت الأشعة فوق البنفسجية وتحدد بالقلم الرصاص، وابتداء من نقطة التحميل وفي اتجاه حركة المذيب، تحدد القواعد كما يلي: جوانين ← أدينين ← حامض سيتيديليك ← حامض يوريديليك.

(جـ) تقطع هذه النقط المحددة وكذلك نقط من البلانك Blank (التجربة الضابطة بدون حامض نووي) وتوضع كل قطعة في ٥ سم٣ من او.ع HCl وتترك لمدة ٢٤ ساعة عند درجة حرارة الغرفة أو بعد رجها لمدة ساعتين، وتقاس عند أطوال موجات مختلفة على جهاز مقياس الضوء الطبيعي (UV)، وتقرأ القواعد عند هذه الأطوال الموجية: أدينين ٢٦٢.٥ جوانين ٢٤٨، سايتوسين ٢٧٦، ٥- هيدروكسي ميثيل سايتوسين ٢٧٩، ثايمين ٢٦٥، يوراسيل ٢٦٠، حامض أدينيليك ٢٥٧، حامض جوانيليك ٢٥٧ حامض سيتيديليك ٢٧٩، حامض يوريديليك ٢٦٢.

ويمكن استخدام هذه الطريقة مع الحامض النووي المعزول أو مع الدقائق الفيروسية الكاملة.

(٥,٢,٢,٢) تحليل ح ن د DNA analysis: يستخدم ٧٠٪ من حامض البركلوريك Perchloric أو ٨٨٪ من حامض الفورميك Formic (أفضل).

(أ) يوضع ح ن د في أنبوبة مسحوبة من البيركس، ويضاف إليها ٨٨٪ حامض فورميك على أن يكون تركيز ح ن د ٢ مجم/ مل حامض فورميك.

(ب) تقفل الأنبوبة وتسخن عند درجة ١٧٥° م لمدة نصف ساعة.

(جـ) تبرد وتسخن من طرف لفتح ثقب يقلل الضغط وتفتح الأنبوبة وتسخن حتى الجفاف.

(د) يوضع أقل من حجم من ١ع HCl على المتبقي بحيث يكون الحجم ١٠ مليجرام/مل HCl

(هـ) تحمل ٢٠ ميكروليترًا على ورق واتمان (Whatman) ويفصل بوساطة مذيب خليط من أيزوبرو بانول: حامض هيدروكلوريك: ماء بنسبة ١٧٠مل من الأول + ١٤ملم HCl + ٣٩ مل H_2O.

تفحص النواتج بالأشعة فوق البنفسيجة، ويحدد بالقلم الرصاص، وتقطع وتذاب في ١,ع HCl وتقرأ باستخدام جهاز مقياس الضوء الطيفي فوق البنفسجية. ويلاحظ أن ترتيب القواعد يكون كما يلي:

جوانين ← أدينين ← سايتوسين ← ثايمين.

(٥,٢,٣) خواص الحامض النووي الدي أوكسي ريبوزي (ح ن د):

(٥,٢,٣,١) مادة وراثية Deoxyribonucleic acid is a genetic material: يعد ح ن د (DNA) جزيء الوراثة في جميع الكائنات الخلوية، وكذلك بعض أنواع الفيروسات، إلا أن أنواعًا أخرى من الفيروسات يكون فيها الحامض النووي الريبوزي (RNA) Ribonucleic acid هو، فقط، المادة الوراثية بما يجعلها في أغرب موضع بالنسبة للمادة الوراثية، وكذلك يميزها عن سائر الكائنات الخلوية. ويعد جزيء ح ن د طويلاً جدًا يشبه الخيط مكونًا من عدد كبير من النيوكليوتيدات فيه تحمل القواعد البيورينية والبريميدينية المعلومات الوراثية Genetic information، بينما تقوم مجموعات السكر والفوسفات بتكوين الهيكل التركيبي. ويتكون هيكل ح ن د من جزيئات سكر الدي أوكسي ريبوز Deoxyribose مرتبطة بقناطر ثنائية الفوسفات Phosphodiester bridges على كل جانبي الخيط باستمرار وانتظام، إذ يرتبط جزيء السكر من موضع (OH) الهيدروكسيل ٣ لإحدى النيوكليوتيدات مع موضع الهيدروكسيل ٥ من جزيء

السكر المجاور بوساطة الرابطة ثنائية الفوسفات. ويحتوي ح ن د على أربعة أنواع من القواعد النتروجينية اثنين بيورينات Purines هما أدينين Adenine (A) وجوانين (G) Guanine واثنين بيريميدينات Pyrimidines هما ثايمين Thymine (T) وسيتوسين (C) Cytosine. ولجزيء ح ن د قطبية Polarity ، فأحد طرفي السلسلة تنتهي بمجموعة 5-OH والطرف الثاني بمجموعة 3-OH´ وكل منهما غير مرتبط بأي نيوكليوتيدة (أي حرة). فإذا كانت بضع نيوكليوتيدات في ترتيب AGGCATCAT 3´ → 5 فهذا يعني أن مجموعة OH - 5 غير المرتبطة تكون سابقة لأول قاعدة هي A وأن مجموعة OH - 3 الحرة تلي آخر قاعدة وهي الثايمين. لذا، فتبعًا لقطبية الجزيء يكتب تتابع القواعد النتروجينية من الاتجاه ٥´ ← ٣´ أي 3´ → 5.

وقد كانت الظواهر التي شوهدت على بكتيريا الالتهاب الرئوي *Streptococcus pneumoniae* اكتشافًا للدور الوراثي لـ ح ن د. فمن المعروف أن هذه البكتيريا تحاط، عادة، بمحفظة مخاطية لامعة من عديد السكر، وهذه الطبقة مهمة لإحداث الإصابة بالبكتيريا التي تسبب الالتهاب الرئوي. أما الطفرات Mutants منها والتي تخلو من هذه المحفظة فتكون غير ممرضة. ويطلق على البكتيريا الممرضة S ، لأن مظهر مستعمراتها أملس Smooth ، أما غير الممرضة فتسمى R ، لأن مظهر مستعمراتها خشن Rough. وأحد الطفرات الخشنة ينقصها أحد الإنزيمات النازعة للهيدروجين والتي تحول UDP-glucose إلى UDP-glucourenate ، هذا الإنزيم لازم لتخليق المحفظة عديدة السكر. وفي سنة ١٩٢٩م، اكتشف فريد جريفيث Fred Griffith أن طفرة *Pneumococcus* الخشنة R المرضة يمكن أن تتحول Transform إلى شكل S الممرض بالطريقة التالية:

عند حقن الفئران بخليط من شكل R الحي وشكل S الميت بالحرارة وجد أن هذا الخليط كان قاتلاً للفئران في حين أن أيهما على حدة غير قاتل. ولذا فإن *Pneumococcus* المقتولة بالحرارة بطريقة ما قد استطاعت تحويل *Pneumococcus* الحية وكان هذا التغير دائمًا. أي أن إجراء هذه التجربة في المعمل *in vitro* قد تم، أيضًا، بدون

حقن الفئران وذلك عند وضع البكتيريا R الحية مع مستخلص بكتيريا S المقتولة بالتسخين فأعطيت بكتيريا حية S. وكانت هذه الموجودة فتحًا لبيان الطبيعة الكيميائية لقاعدة التحويل Transforming. وقد نشر أزوالد آفري Oswald Avery وكولين ماكلويد Colin Mcleod وماكلين مكارتي Maclyn MacCarty سنة ١٩٤٤م بحثًا وضحوا فيه:

١ - أن العامل النقي المسبب لتحويل Pneumococcus يتفق بالتحليل الكيميائي مع الكميات المحسوبة من ح ن د.

٢ - أن الخواص الضوئية والطرد مركزية والانتشارية والحمل الكهربائي للمادة النقية يشبه مثيلاتها في ح ن د.

٣ - لا تفقد قدرة التحويل عند استخلاص البروتين أو الدهون.

٤ - التربسين Trypsin والكيموتربسين Chymotrypsin، وهما من الإنزيمات المحللة للبروتين لا تؤثر على القدرة التحويلية.

٥ - الريبونيوكليز Ribonuclease (إنزيم محلل ح ن ر RNase) لا يؤثر على قدرة التحويل.

٦ - بينما تفقد القدرة على التحويل بإضافة دي أوكسي ريبونيوكليز (إنزيم محلل ح ن د DNase).

من هذا يتضح إن ما يحمل الصفات الوراثية هو ح ن د (DNA). أما الدليل الثاني الذي يدعم هذه الحقيقة فقد جاء من أبحاث روجر هيريوت Roger Herriott على نوع من فيروسات البكتيريا يسمى T2 يصيب البكتيريا القولونية *Escherichia coli* سنة ١٩٥١م والذي يحتوي على محور Core من ح ن د، فاقترح أن هذا الفيروس يعمل كإبرة حقنة دقيقة ممتلئة بالمادة المحولة، وأن الفيروس لا يدخل الخلية بل يخرم ذيله جدار الخلية محدثًا ثقبًا فيه بوساطة إنزيم فينساب الحامض النووي من رأس الفيروس إلى داخل الخلية.

وقد وضع كل من ألفريد هيرشي Alfred Hershy ومارثا تشيس Martha Chase هذه الفكرة تحت التجريب، إذ قاما بتشعيع Labelling ح ن د (DNA) بوساطة الفوسفور المشع P^{32} radioisotope P^{32}، بينما شعع بروتين لاقم البكتيريا بالكبريت المشع

S^{35}. وكانت هذه المواد المشعة نوعية جيدة جدًا ؛ لأن ح ن د (DNA) لا يحتوي على كبريت كما يخلو بروتين الغطاء من الفوسفور. وعندما أصيبت مزرعة البكتيريا القولونية بلاقم البكتيريا المشعع ، إذ أصبحت T2 متصلة ومدمصة Attached and adsorbed بالبكتيريا في فترة تحضين بسيطة. ثم رسبت خلايا البكتيريا بدورانها عند قوة طرد مركزي قدرها ١٠,٠٠٠ لفة في الدقيقة r.p.m مما عرض خلايا البكتيريا المصابة بلاقم البكتيريا لتلك القوة شديدة التمزيق Shearing force والتي أثرت على اتصال لاقم البكتيريا ، كان ناتج ذلك هو ترسيب الخلايا البكتيرية في قاع الأنبوبة ، بينما ظلت في الرائق Supernatant الجزيئات الصغيرة. وبتحليل S^{35}, P^{32} الموجودين في الراسب Pellet والرائق لتحديد موضع ح ن د (DNA) وبروتين لاقم البكتيريا ، كانت نتائج تجاربهما كما يلي :

١ - وجد أغلب ح ن د (DNA) لاقم البكتيريا في داخل البكتيريا (الراسب).
٢ - وجد أغلب بروتين لاقم البكتيريا في خارج البكتيريا (الرائق).
٣ - لم تؤثر قوى التمزيق الناتجة عن الطرد المركزي في إنتاج خلفة Progeny من لاقم البكتيريا في البكتيريا المصابة.

وقد أثبتت تجارب أخرى إن اقل من ١٪ من S^{35} قد انتقل من لاقم البكتيريا الأبوي إلى بنوة لاقم البكتيريا (خلفته) وعلى النقيض ظهر نحو ٣٠٪ من P^{32} في هذه الخلفة مما أدى إلى هذه الخلاصة : "يمكن فصل لاقم البكتيريا T2 فيزيائيًا إلى أجزاء وراثية وأخرى غير وراثية". كما أن البروتين الذي يحتوي على الكبريت لبقايا جزيئات لاقم البكتيريا يكون مقصورًا على الغطاء الواقي المسئول عن ادمصاصه Adsortion لخلايا البكتيريا ، ويعمل أداة لحقن ح ن د DNA Injection للاقم البكتيريا في الخلية ، وليس لهذا البروتين أي وظيفة فيما يختص بتكاثر لاقم البكتيريا داخل الخلية.

والتدعيم الثالث لحقيقة أن ح ن د (DNA) هو المادة الوراثية ، جاء من دراسة محتواة في خلايا مفردة والتي وضحت في الأنواع المحددة أن محتوى ح ن د متساوٍ في كل الخلايا ثنائية مجموعة الكروموسومات ونصفه في أحادية المجموعة الصبغية.

وإذا كانت الجينات الوراثية تتكون من ح ن د DNA في كل الكائنات الخلوية سواء كانت أولية النواة Prokaryotes أو حقيقة النواة Eukaryotes ، إلا أن الجينات الوراثية للفيروسات تكون إما من ح ن د (DNA) وإما من ح ن ر (RNA)، وفيروس تبرقش التبغ TMV واحد من أعظم ما درس بالنسبة للفيروسات ذات ح ن ر (RNA)، إذ يتكون من جزيء من ح ن ر (RNA) محاطًا بغطاء من البروتين من ٢١٣٠ تحت وحدة متماثلة. ويمكن فصل ح ن ر (RNA) عن البروتين بوساطة الفينول. ويكون ح ن ر (RNA) المعزول من الفيروس معديًا Infectious. أما البروتين الفيروسي فغير معدٍ بذاته. وقد قدمت الهجن المخلقة Synthetic hybrids لدقائق الفيروس دليلاً إضافيًا على أن النوعية الوراثية للفيروس تكمن أساسًا في الحامض النووي ح ن ر (RNA)، إذ توجد عدة سلالات من فيروس تبرقش التبغ. وبذا فإن الهجين المخلق يمكن تحضيره من ح ن ر لسلالة١ وبروتين من سلالة٢ وهجين آخر يمكن تحضيره من ح ن ر لسلالة٢ وبروتين سلالة١. وفي كل حالة من الإصابة بهذه الهجن، كانت الخلفة مكونة من ح ن ر وبروتين مناظر لنوعية ح ن ر للفيروس الهجين المعدي بغض النظر عن نوع البروتين الأصلي.

(٢,٣,٢,٥) ح ن د حلزون مزدوج DNA double helix:استطاع جيمس واطسون James Watson وفرانسيز كريك Francis Crick سنة ١٩٥٣م تحديد التركيب ثلاثي البعد Three dimensional structure لجزيء ح ن د (DNA)، وبذا تمكنا من تحديد آلية تكاثره Replication Mechanism ، فعندما حللا صور تشتت أشعة X X-ray diffraction لألياف ح ن د (DNA) مأخوذة بوساطة كل من روزالند فرانكلين Rosalind Franklin وموريس ولكنز Maurice Wilkins أمكنهما وضع نظام Model لتركيب ح ن د (DNA) كما يلي:

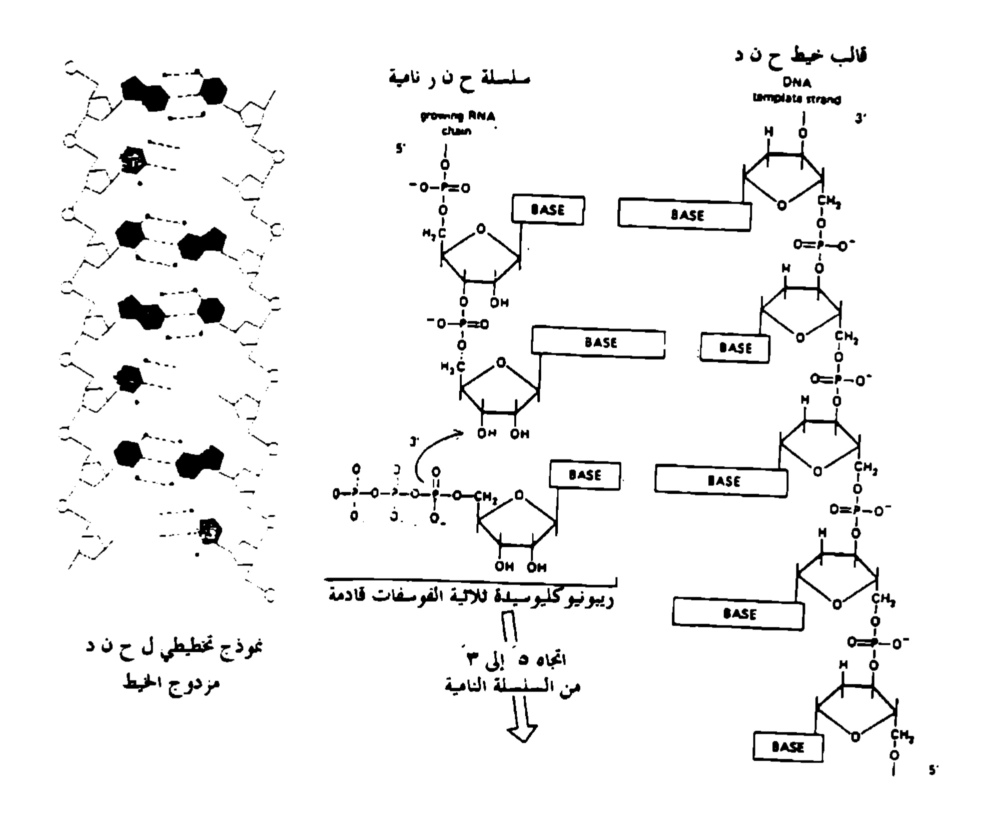
(١) تلتف Coil سلسلتان حلزونيتان Helical من عديد النيوكلوتيدات Polynucleotides حول محور Axis عام. وتترتب هاتان السلسلتان في اتجاهين متضادين ؛ Antiparallel.

(ب) توحد البيورينات والبريميدينات في داخل الحلزون، بينما تترتب مجموعات الفوسفات وجزيئات السكر دي أوكسي ريبوز خارجة. وتكون محاور القواعد عمودية على محور الحلزون، بينما تقع محاور السكر على زوايا عمودية تقريبًا بالنسبة للقواعد (أنظر الشكلين رقم ٢٥ و ٢٦).

دي أوكسي أدينوسين ٥َ - الفوسفات (د. إيه. يّ. بي) nucleotide (نيوكليوتيدة)	دي أوكسي أدينوسين (نيوكليوسيدة) nucleoside	عديد النيوكليوتيدات Polynucleotide

الشكل رقم (٢٥). التركيب البياني لبعض أنواع النيكوليوسيدات والنيوكليوتيدات.

(جـ) قطر الحلزون ٢٠ A° (أنجستروم Angstrom)، وتفصل القواعد المتجاورة بمسافة قدرها ٣,٤ A° على طول محور الحلزون، وتكون درجة دورانها ٣٦ درجة وبذا فإن تركيب الحلزون يتكرر بعد كل ١٠ قواعد في كل سلسلة أي على مسافة قدرها ٣٤ A°.



الشكل رقم (٢٦). توضيح لتكوين ح ن د مزدوج الخيط.

(د) ترتبط السلسلتان معًا بروابط هيدروجينية Hydrogen bonds بين أزواج Pairs القواعد. ويزدوج الأدينين دائمًا مع الثايمين والجوانين مع السيتوسين.

(هـ) لا يتقيد تتابع القواعد النتروجينية على طول سلسلة عديدة النيوكليوتيدات بأية طريقة. كما أن التتابع الدقيق للقواعد يحمل المعلومات الوراثية. وأهم نقطة في حلزون ح ن د (DNA) المزدوج هي التخصص المحدد لازدواج القواعد، إذ قرر واطسون وكريك أن الأدينين لا بد أن يزدوج مع الثايمين T:A وأن الجوانين لا بد أن يزدوج مع السيتوسين C:G ويرجع ذلك للتركيب الفراغي والربط الهيدروجيني، فالتحديد الفراغي Steric restriction من طبيعة الحلزون المنتظمة

لإطار السكر والفوسفات في كل سلسلة عديدة النيوكليوتيدات. والروابط الجليكوسيدسية Glycosidic bonds التي تشبك مع أزواج القواعد المربوطة تكون دائما مفصولة بمسافة قدرها ١٠,٨٥ °A مما يجعل هذه المسافة مناسبة تمامًا لزوج القواعد البيورينية. وعلى النقيض، فهذه المسافة لا تكفي لزوج من البيورينات كما أنها أكبر من أن تضم زوجًا من البريميدينات، ولذا فإنه تبعًا لهذا التركيب الفراغي، لا بد أن يكون زوج القواعد في حلزون ح ن د (DNA) هما: بيورين وبريميدين. هذا علاوة على أن ازدواج القواعد يكون محددًا بمتطلبات الربط الهيدروجيني تبعًا لمواضع ذرات الهيدروجين المحددة على القواعد، فلا يمكن أن يزدوج الأدينين مع السيتوسين؛ لأنه سيكون هناك ذرتا هيدروجين قريبتان من أماكن الربط، بينما لا يوجد على الموضع الآخر، وبالمثل، لا يمكن أن يرتبط الجوانين بالثايمين: وطبيعيًا فإن الأدينين يكون رابطتي هيدروجين مع الثايمين، بينما يكون الجوانين ثلاث روابط هيدروجينية مع السيتوسين. ومن الضروري أن يكون التوجيه Orientation والمسافات بين الروابط الهيدروجينية مثاليًا حتى يتم الترابط القوي بين القواعد. ومما دعم هذه الأسس نتائج إروين تشارجاف Erwin Charguf سنة ١٩٥٠م عندما وجد أن نسبة الأدينين: الثايمين والجوانين السيتوسين = ١ تقريبًا في جميع الأنواع التي درست.

(٥,٢,٣,٣) السلاسل المكملة تعمل قوالب لبعضها بعضًا في تكاثر ح ن د

The complementary chains act as templates for each other in DNA replication

بعد أن اكتشف كل من واطسون وكريك نظام تركيب جزيء ح ن د (DNA) بشهر واحد، قدما سنة ١٩٥٣م اقتراحًا بآلية تكاثر ح ن د (DNA)، فإذا عرف الترتيب الفعلي للقواعد على إحدى سلسلتي الجزيء، فإنه من الممكن كتابة الترتيب الدقيق للقواعد على السلسلة الثانية تبعًا للتخصص النوعي للازدواج. ولذا فإنّ أي سلسلة تكون مكملة للأخرى، وهذه الخاصية توضح كيف يتكاثر جزيء ح ن د (DNA) إلى

زوج من القوالب Templates كلٌ منهما مكمل للآخر. وقد تخيلا أنه قبل التضاعف Duplication (= التكاثر Replication)، فإن الروابط الهيدروجينية تتكسر وتتفكك Unwined لفات السلاسل فتنفصل لتعطي قالبين، وكل سلسلة عندئذ تعمل كقالب لتكون عليه سلسلة جديدة مكملة وبذا ينتج زوج من السلاسل، علاوة على أن القواعد النتروجينية تتضاعف بنفس ترتيبها.

(٥,٢,٣,٤) تكاثر ح ن د نصف محافظ DNA Replication is semiconservative:

اقترح كل من واطسون وكريك أن أحد خيطي كل من جزيئي ح ن د (DNA) البنويين يتخلق من جديد، بينما يكون الآخر مستمدًا من الجزيء (الأصلي). هذا التوزيع للذرات الأبوية يسمى نصف محافظ Semiconservative وقد وضع كل من ماثيو ميسلسون Mathew Meslson وفرانكلين شتال Franklin Shtal ١٩٥٨م، هذا الفرض تحت الاختبار: إذ شعما ح ن د (DNA) الأبوي بالنتروجين الثقيل N^{15} ليكون أثقل من ح ن د العادي N^{14}. وقد تحقق ذلك بتنمية البكتيريا القولونية *E. Coli* لعدة أجيال في وسط يحتوي على $N^{15}, H_4 Cl$ كمصدر جديد للنتروجين ثم نقلت البكتيريا إلى وسط N^{14} النظير العادي للنيتروجين.

وتساءلا هذا السؤال: ما هو توزيع N^{14} ، N^{15} في جزيئات ح ن د (DNA) بعد عدة دورات متتابعة من التكاثر؟.

واستطاعا الوصول إلى الإجابة باستخدام تقنية ترسيب التوازن على متدرج الكثافة Density gradient equilibrium sedimentation بإذابة كمية قليلة من ح ن د (DNA) في محلول مركز من كلوريد السيزيوم Cesium chloride ذي كثافة مقاربة لكثافة ح ن د (DNA) (=١.٧ جم/سم^{3}) وعندما يدار هذا المحلول طرديًا Centrifuged، فإن القوى المتعارضة للترسيب والانتشار تخلق متدرجًا في التركيز لكلوريد السيزيوم خلال أنبوبة الطرد فيتكون مدرج كثافة ثابت يتراوح بين ١.٦٦ - ١.٧٦جم/سم^{3}، وعندما تدفع جزيئات ح ن د (DNA) خلال متدرج الكثافة بقوة الطرد المركزي إلى منطقة

تتساوى فيها كثافة طفوها Buoyant density مع كثافة المحلول، فإن الجزيئات تنفصل في حلقة (حزمة) Band حادة، كل حسب وزنها الجزيئي ويكشف عن وجودها عن طريق امتصاصها للأشعة فوق البنفسجية عند ٢٦٠ نانومترًا (nm). بهذا أمكن فصل ح ن د (DNA) الحقيقي (N^{14}-DNA) عن ح ن د الثقيل (N^{15}-DNA) خلال متدرج الكثافة، إذ إن فرق كثافتهما ١٪. وباستخلاص ح ن د (DNA) من البكتيريا على فترات ونقله من وسط N^{15} إلى وسط N^{14} وتحليلها، وجد على متدرج الكثافة حلقة واحدة بعد جيل واحد، وكانت كثافتها في منتصف الكثافة بين N^{14}-DNA, N^{15}-DNA. وقد أوضح غياب N^{14}-DNA، أن كل جزيئات ح ن د (DNA)، البنوية تحتوي على بعض ذراتها من ح ن د (DNA) الأبوي. وهذه النسبة لا بد أن تكون النصف؛ لأن كثافة حزمة ح ن د الهجين كانت في منتصف المسافة بين N^{15}-DNA, N^{14}-DNA وبعد جيلين، كانت كميات حزمتي ح ن د (DNA) متساويتين. الأولى كانت ح ن د (DNA) هجين والأخرى كانت ^{14}N-DNA واستخلص كل من ميسيلسون وشتال من هذه التجربة: "أن النتروجين الموجود بجزيء ح ن د (DNA) ينقسم بالتساوي إلى تحت وحدتين أي أنه عقب التكاثر يستقبل كل جزيء بنوي واحدة منهما وأن تحت الوحدات هذه تكون محافظة Conserved لعدة أجيال".

(٥,٢,٣,٥) جزيئات ح ن د طويلة جدًا DNA molecules are very long

من بين خواص ح ن د (DNA) المميزة هي طوله إذ إن كروموسوم البكتيريا القولونية عبارة عن جزء واحد من ح ن د (DNA) الحلزوني المزدوج والذي يتكون من ٣,٤ مليون من القواعد النتروجينية المزدوجة ويصل وزنه الجزيئي إلى ٢.٣ × ١٠^{٦} دالتون. وهو جزيء على درجة عالية من عدم التماثل في الشكل. إذ يبلغ طوله ١٠ $\mathring{A}$، بينما قطره ٢٠ $\mathring{A}$، ويبلغ كونتور طوله نحو ١٠٢مم. وقد وجد بيورنو زم Burno Zimm أن أطول كروموسوم في حشرة ذبابة الفاكهة *Drosophila* يحتوي على جزيء واحد من ح ن د (DNA) به ٦.٢ × ١٠^{٧} من ح ن د (DNA) عُرضة بدرجة عالية للتقطيع بقوى التمزيق Shearing forces.

الجدول رقم (٢). مقارنة بين أحجام جزيئات ح ن د (DNA) في الفيروسات والميكوبلازما والبكتيريا.

المصدر	عدد القواعد	الطول(ميكرون)	الوزن الجزيئي(دالتون)
الفيروسات			
بوليوما أو إس في ٤٠ .Polyomavirus or SV-40	٤,٦٠٠	١,٦	٣,١×١٠^٦
لاقم البكتيريا لامدا – (λ).	٥٣٠٠٠	١٦,٠٠	٣١×١٠^٦
لاقم البكتيريا ت٢ (T2)	١٨٥٠٠٠	٦٣,٠٠	١٢٢×١٠^٦
فاكسينيا Vaccinia	٢٤٠٠٠٠	٨١,٠٠	١٥٧×١٠^٦
الميكوبلازما Mycoplasma	٧٦٠٠٠٠	٢٦٠٠٠	٥٠٤×١٠^٦
البكتيريا القولونية *E. coli*	٣٤٠٠٠٠٠	١٢٠٠٠	٢٣٢٠×١٠^٦

وقد أمكن رؤية جزيئات ح ن د (DNA) للفيروسات والبكتيريا بالفحص المباشر بوساطة المجهر الإلكتروني. ومما تجدر الإشارة إليه أنه حتى أصغر جزيئات ح ن د (DNA) تعد كبيرة.

(٦,٣,٢,٥) بعض جزيئات ح ن د دائرية Some DNA molecules are circular:

بيّن المجهر الإلكتروني أن جزيئات ح ن د (DNA) من مصادر عدة تكون دائرية مثل البكتيريا القولونية *E. coli* وفيروسات بوليوما، والسرطان الحلمي ولاقم البكتيريا ϕX-174 وغيرها. ومصطلح "دائري" يعني استمرارية سلسلة ح ن د (DNA) وليس المقصود به الشكل الهندسي. وجزيئات ح ن د (DNA) في داخل الخلية *in vivo* لا بد أن تكون ذات شكل منضغط مكموش Compact، إذ من الملاحظ أن طول جزيء ح ن د (DNA) قد يكون أكبر ألف مرة من قطر البكتيريا نفسها، ولا يعني ذلك أن كل جزيئات ح ن د (DNA) دائرية. إن ح ن د في فيروس ت-٧ (T) يكون طوليًّا Linear. على حين تتبادل جزيئات ح ن د (DNA) لبعض الفيروسات مثل لاقم البكتيريا لامدا (λ) التحول من الشكل الدائري إلى الشكل الطولي كما أن الشكل الأخير يوجد داخل الدقيقة الفيروسية، بينما يوجد الشكل الدائري في خلية العائل.

(٥,٢,٣,٧) بعض الفيروسات تحتوي على ح ن د عبارة عن خيط مفـــرد علــى الأقل في جزء من دورة حياتها

The DNA in few viruses contains single - stranded for at least a part of their life cycle

ليست كل خيوط ح ن د (DNA) دائمًا مزدوجة stranded–double ، فقد اكتشف روبرت سنشيمر Robert Sensheimer أن ح ن د (DNA) في لاقم البكتيريا فاي إكس - ١٧٤ (ϕX-174) وهو فيروس صغير يصيب البكتيريا القولونية، عبارة عن خيط مفرد، كما أن نتائج عدة أدت إلى هذا الاستنتاج الغريب:

أولها: أن نسبة القواعد في هذا الفيروس لا تتماشى مع القاعدة C=G, T=A.

ثانيها: أن محلولاً من ح ن د (DNA) الفيروسي يكون أقل في اللزوجة من محلول له نفس التركيز من ح ن د للبكتيريا القولونية، كما أن الخواص الهيدروديناميه Hydrodynamic لـ ح ن د للفيروس تماثل البوليمر الملتف عشوائيًا على عكس هيدروديناميه ح ن د ذي الخيط المزدوج، التي تسلك كقضيب صلب.

ثالثها: أن المجموعات الأمينية لقواعد ح ن د (DNA) مزدوج الخيط تتفاعل بسرعة مع الفورمالدهيد، بينما لا تتأثر به قواعد ح ن د (DNA) مزدوج الخيط. ولقد أثار ح ن د (DNA) كخيط مفرد شكوكًا حول عمومية نظام التكاثر نصف المحافظ المقترح بوساطة واطسون وكريك. ومع هذا، فلم يمض وقت حتى اكتشف سنشيمر أن ح ن د للاقم البكتيريا (ϕ - 174) يكون خيطًا مفردًا في فترة واحدة من دورة حياته. إذا وجد أن البكتيريا القولونية المصابة بهذا الفيروس تحتوي على شكل مزدوج من خيط ح ن د (DNA) لهذا الفيروس. ويسمى ح ن د هذا بالشكل التكاثري أو الوسيط التكاثري (RF) Replicative form (intermediate)؛ لأنها تعمل كقالب لتخليق ح ن د (DNA) خلفة الفيروس.

ومن الأمثلة الأخرى على هذه الفيروسات فيروس بارفو Parvo virus (الذي يكمن في الجرذان) وفيروس دنسو Denso virus الذي يصيب الحشرات، وفيروس مذنب الأدنو - Adeno associated virus الذي يحتاج لوجود فيروس الأدنو، وكلها

تابعة لعائلة بارفو Parvoviridae وكذا فيروس جيميني Gemini الذي يصيب النبات ويثابر (يداوم) Persists في الذباب الأبيض بالإضافة إلى لاقم البكتيريا إف دي (fd) و إم -١٣ (M-13).

(٥,٢,٣,٨) اكتشاف إنزيم مبلمر ح ن د Discovery of a DNA polymerase

بحثًا عن إنزيم يخلق ح ن د استطاع آرثر كورنبرج ورفاقه Arthur Kornberg *et al.*, سنة ١٩٥٥م أن يتساءلوا ثلاثة أسئلة:

١ - ما هي الأصول المنشطة Activated precursors في ح ن د؟. واستطاعوا أن يقرروا بأن دي أوكسي ريبونيوكليو سيدات ثلاثي الفوسفات Deoxyribonucleosides triphosphates هي الوسائط Intermediats النشيطة في تخليق ح ن د (DNA)، وكان ذلك مبنيًا على دليلين:

أولهما: أن مسارات التخليق الحيوي للبيورين والبريميدين تؤدي إلى تكوين نيوكليوسيد -٥ فوسفات Nucleoside-5-phasphate وليس إلى نيوكليوسيد -٣ فوسفات Nucleoside 3 phosphate.

ثانيهما: أن أدينوسين ثلاثي الفوسفات ATP هو الوسيط النشيط في تخليق رابطة بيروفوسفات Pyrophasphate bond في المرافقات الإنزيمية مثل NAD^+ ,CoA, FAD.

٢ - ما هو الدليل على تخليق ح ن د؟ باستخدام أصول النيوكليوتيدات المشعة، فإن شمولها في ح ن د يمكن الكشف عنه كمادة تترسب بالحامض مثل ثلاثي كلورو حامض الخليك (Trichloro acetic acid (TCA، بينما يبقى في المحلول أصول النيوكليوتيدات الحرة.

٣ - ما نوع الخلايا التي يجب تحليلها؟ فضلت البكتيريا القولونية *E. coli* على مستخلصات الخلايا الحيوانية؛ لأنها تعطي جيلاً كل ٢٠ دقيقة كما يمكن الحصول على كميات كبيرة منها. وعند تحضين Incubation مستخلص *E. coli* مع دي أوكسي ثايميدين -٥ فوسفات Deoxy thymidine -5 phosphate المشع

بالكربون ١٤ الذي كان يعطي مليون عدة في الدقيقة Count per minute (c.p.m)، كان ناتج الراسب بالحامض (أي المخلق) في هذا الخليط يعطي ٥٠ عدة في الدقيقة، فقط، وتخلقت كمية ضئيلة جدًا من إنزيم مبلمر ح ن د DNA polymerase مما دفعهم لتنقية عدة أنواع منه وبعد عشر سنوات أمكن تنقية هذا الإنزيم إذ إن مائة كيلوجرام من *E. coli* تعطي ٥٠٠ ملّيجرام من الإنزيم.

وإنزيم مبلمر ح ن د هو عبارة عن سلسلة واحدة من عديد الببتيد ذات وزن جزيئي ١٠٩،٠٠٠، ويعمل كعامل مساعد خطوة بخطوة في إضافة وحدات دي أوكسي نيوكليوتيدات إلى سلسلة ح ن د.

$$\text{(DNA) n residues} + \text{DNTP} \longrightarrow \text{(DNA) n} + \text{PP1}$$

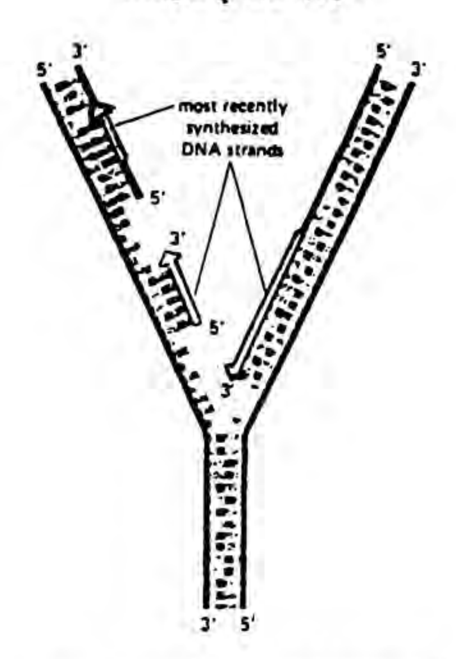
ويتطلب إنزيم مبلمر ح ن د هذه المكونات لتخليق سلسلة ح ن د:

١ - كل الأربع دي أوكسي نيوكليوسيد -٥ ثلاثي الفوسفات أي dCTP و dTTP و dGTP و dATP وكذلك المغنيسيوم Mg^{++}.

٢ - يضيف الإنزيم الدي أوكسي ريبونيوكليوتيدات إلى الطرف OH - 3َ من خيط ح ن د سابق وجوده أو (ح ن ر RNA)، وبمعنى آخر، لا بد من وجود سلسلة بادىء Primer chain ذات مجموعة OH - 3َ حرة.

٣ - وجود قالب ح ن د DNA template أساسي. وهذا القالب يمكن أن يكون خيطًا مفردًا أو مزدوجًا من ح ن د .والأخير يكون قالبًا فعالاً، فقط، عندما يتكسر هيكل السكر والفوسفات عند موضع أو أكثر.

ويساعد إنزيم مبلمر ح ن د في استطالة السلسلة Chain elongation بمهاجمة نواة Nucleophilic attack طرف البادىء عند ذرة الفوسفور من النيوكليوسيدة ثلاثية الفوسفات الدخلة في التفاعل. وبذا تتكون قنطرة من ثنائي إستر الفوسفات Phosphodiester، وفي اللحظة نفسها، تنطلق مجموعة بيروفوسفات (PP). كما أن التحلل المائي للبيروفوسفات يدفع عملية البلمرة للأمام. وعلى هذا، فإن استطالة سلسلة ح ن د تتقدم في الاتجاه ٥ ← ٣ كما أن ١٠٠٠ نيوكليوتيدة تضاف كل دقيقة بوساطة إنزيم مبلمر ح ن د واحد (الشكل رقم ٢٧).



الشكل رقم (٢٧). تكاثر الحامض النووي مزدوج الخيط في اتجاهين على الخيطين المنفصلين وتكوين شوكة التكاثر وقطع أوكازاكي.

(٥,٢,٣,٩) يأخذ بلمرة ح ن د تعليماته من قالب

DNA template takes instructions from a template:

يساعد إنزيم بلمرة ح ن د تفاعل تكوين رابطة ثنائي إستر الفوسفات، فقط، إذا كانت النيوكليوتيدة القادمة مكملة للقاعدة الموجودة على خيط القالب، وتبعًا للنتائج التجريبية التالية، فإن إنزيم بلمرة ح ن د يأخذ تعليماته من القالب.

(أ) لا يتم تخليق ح ن د بكفاءة إلا في وجود الأربع نيوكليوسيدات ثلاثية الفوسفات وقالب ح ن د.

(ب) يمكن للإنزيم أن يدخل اليوراسيل و ٥ بروموبوراسيل 5 - bromouracil حالاً مكان الثايمين وكذلك إحلال هيبوزانثين Hypoxanthine بدلاً من الجوانين وليس العكس وهذه القواعد تسمى متشابهات Analogues.

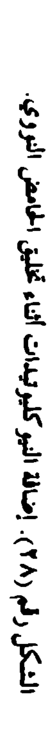
(جـ) يعتمد تركيب القواعد في ح ن د المخلق حديثا على طبيعة القالب، وبذا فإن ح ن د الناتج يكون له نفس تركيب القواعد مثل ح ن د القالب ذي الحلزون المزدوج. وهذه النتيجة توضح أن خيطي ح ن د القالب قد تكاثرا بوساطة إنزيم مبلمر ح ن د.

(د) أنه لا يزال من الصعب تحديد تتابع القواعد على طول خيط ح ن د ومع هذا، فيمكن تحليل أقرب المتجاورات من القواعد للاحتمالات الست عشرة لثنائيات القواعد مثل (AA,AT,AC,AG) وهكذا، وقد أدى هذا التكنيك إلى معرفة أن ثنائيات القواعد في كل من ح ن د المخلق حديثا وقالب ح ن د متماثلان تماما بما يؤكد أن هذا الإنزيم يعمل بدقة لتكاثر القواعد المتابعة مثل ح ن د القالب (الشكل رقم ٢٨).

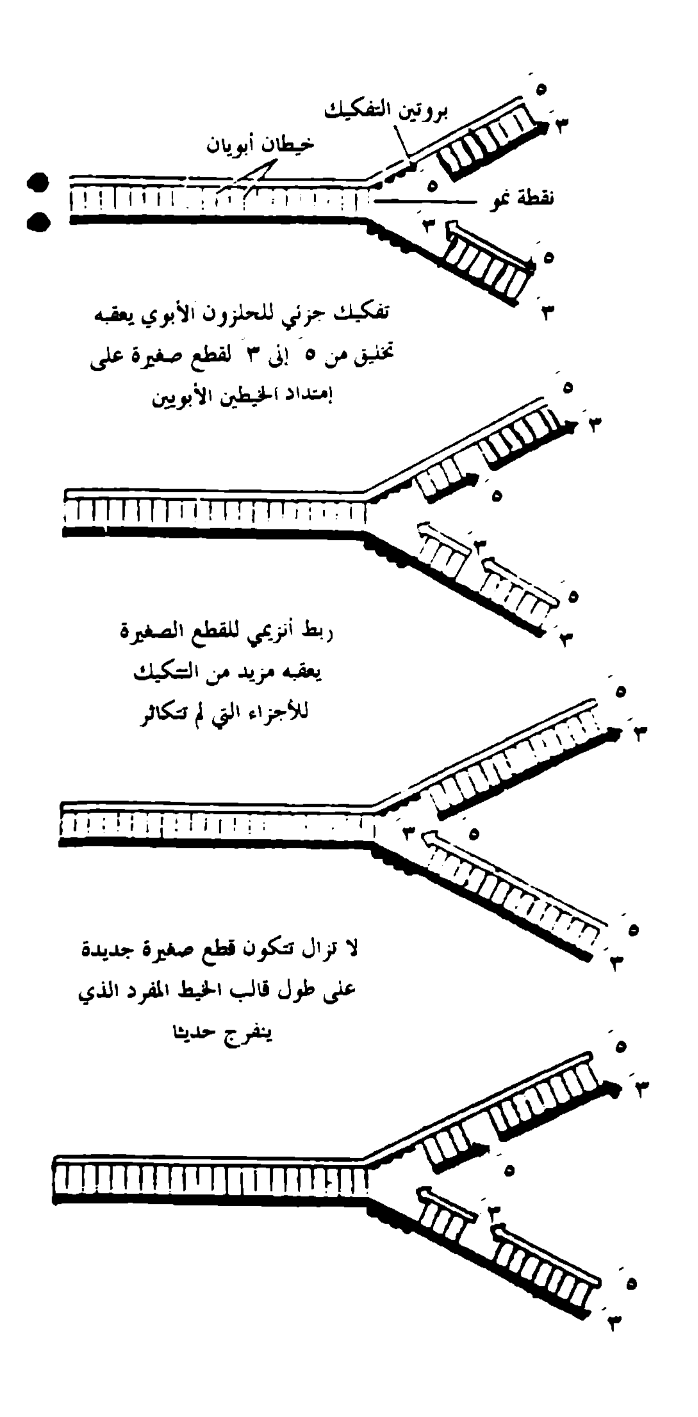
فهل هذا النشاط الذي ينتج عنه التحليل الإنزيمي الخارجي للحامض النووي هو جانب سيىء في الإنزيم أم أن له وظيفة بيولوجية؟.

لقد أثبتت التجارب أن هذه الوظيفة التحليلية للإنزيم تقوم بإزالة غلطات أو عدم تطابق Mistakes or Mismatched النيوكليوتيدات التي تبلمرت خطأ من جزيء ح ن د قبل الاستمرار في عملية البلمرة (مثل خيط الحياكة، انظر الشكل رقم ٣٠). وهذه القدرة التحليلية ليس لها أثر بالنسبة للتخليق الصحيح. ولذا فيمكن القول بأن تكاثر ح ن د يكون دقيقا جدا؛ لأن ازدواج القواعد قد تم الكشف checked عنه مرتين فلا تحدث البلمرة إلا إذا تطابقت القواعد في الحلزون المزدوج، كما أن أي خطأ يحدث فيها يزيله الإنزيم قبل الاستمرار.

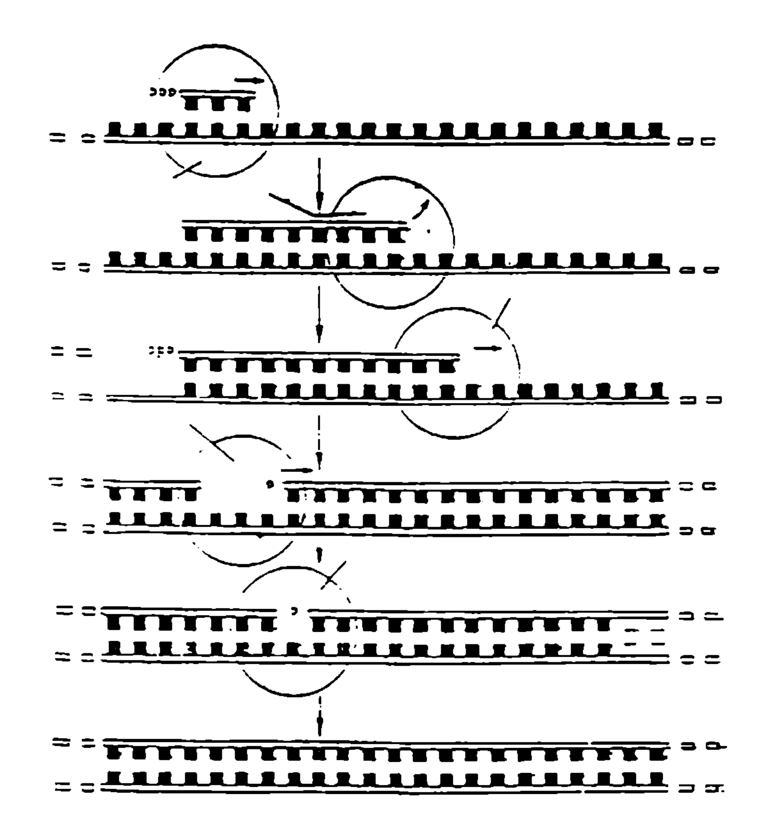
وبالإضافة إلى إنزيم مبلمر ح ن د -١ يوجد إنزيم مبلمر ح ن د -٢، ٣. ويلزم لتخليق ح ن د الجديد أن يعمل تفكيك Unwinding لحلزون الخيط المزدوج، فيتباعد الخيطان المنفصلان، وعمليتا التفكك والتخليق متلازمتان Simultaneous ومكانهما يسمى شوكة التكاثر Replication fork.



الشكل رقم (٢٨). إضافة النيوكليوتيدات أثناء تخليق الحامض النووي.



الشكل رقم (٢٩): مراحل تكاثر حلزون ح ن د د المزدوج الخيط ds-DNA في الاتجاه ٥ ← ٣ في قطع أوكازاكي.



الشكل رقم (٣٠). استخدام باديء من ح ن ر RNA primer لبدء تخليق وتضاعف ح ن د DNA.

(٥,٢,٣,١٠) يبدأ تكاثر ح ن د عند منشأ مميز ويتقدم تتابعيًا في الاتجاهات المضادة

DNA replication starts at unique origin and proceeds sequentially in opposite directions: إذ أن عملية تخليق ح ن د (DNA) متناهية التنظيم، فإن موضعًا نوعيًا للبداية Site specific initiation لا بد من تحديده من قبل، وعلى هذا فإن التكاثر:

١ - يبدأ من موضع مميز يسمى نقطة البداية لحين محدد.

٢ - يتقدم في اتجاهين متضادين في الوقت نفسه وبالسرعة نفسها، أي يوجد شوكتي تكاثر: واحدة تتحرك في اتجاه عقرب الساعة والثانية عكسه.

٣ - تتقابل الشوكتان المتكاثرتان عند نقطة مقابلة لنقطة البداية. هذا بالنسبة للكروموسومات الدائرية إذ يكون التكاثر فيها مشابهًا لما سبق وكذلك بالنسبة لمزدوج حلزون ح ن د الخيطي.

(٥,٢,٣,١١) يخلق ح ن د كقطع ثم يتم وصلها DNA is synthesized as fragments which then joined : فبالنظر إلى المراحل الإنزيمية عند شوك التكاثر، نجد أن خيطي ح ن د الأبوي كليهما يعملان ، كقوالب لتخليق ح ن د الجديد ونحن نعلم أن هذين الخيطين متوازيان عكسيًّا Antiparallel ، من ثم ، فإن الاتجاه العام لتخليق ح ن د لا بد أن يكون في الاتجاه 5َ ← 3َ لخيط بنوي واحد ويكون في الاتجاه 3َ ← 5َ للخيط البنوي الثاني. ومع هذا ، فإن الثلاثة إنزيمات المبلمرة ح ن د تخلق ح ن د في الاتجاه 5َ ← 3َ ؛ فقط ، وليس من 3َ ← 5َ ، كيف يحدث هذا؟. استطاع ريجي أوكازاكي Reji Okazaki أن يثبت أن كميات كبيرة من ح ن د المخلق حديثًا توجد في قطع صغيرة كل قطعة منها نحو ١٠٠٠ نيوكليوتيدة مما يطلق عليها الآن قطع أوكازاكي Okazaki fragments والتي توجد لحظيًّا Momentarily مجاورة لشوكة التكاثر. ويتقدم التكاثر، تَوَصَّل هذه القطع تشاركيًّا Covalently في سلسلة بنوية طويلة بوساطة إنزيم اللحام (الليجيز Ligase) ، ولذا فإن تكاثر ح ن د يعد عملية غير متصلة Discontinuous process. ويوضح الشكل رقم (٢٨) نموذجًا لتكاثر ح ن د. وفي هذا التخطيط ، تخلق قطع كل من الخيطين البنويين في الاتجاه 5َ ← 3َ بنفس نوع إنزيم البلمرة والقطع الجديدة التي تزدوج قواعدها بنفس خيط القالب تلتحم معًا بإنزيم اللحام (ليجيز). والنتيجة النهائية أن ينمو أحد الخيطين البنويين في الاتجاه 5َ ← 3َ بينما ينمو الآخر في الاتجاه 3َ ← 5َ ، ليصبح اتجاههما النهائي واحدًا.

ولمراجعة ما سبق، انظر النماذج التي رسمها واطسون في كتابه "Molecular Biology of the Gene" 1976.

(٥,٢,٣,١٢) يبدأ تخليق ح ن د بوساطة ح ن ر DNA synthesis is primed by RNA: كيف يبدأ تخليق ح ن د؟ نذكر أن إنزيمات بلمرة ح ن د الثلاثة تحتاج إلى بادىء Primer به مجموعة 3-OH´ حرة لبدء Initiation تخليق ح ن د فما البادىء في الخلية (*in vivo*)؟ لقد أوضحت الأبحاث الحديثة أن تخليق ح ن ر(RNA) ضروري لبدء تخليق ح ن د (DNA) علاوة على أن قطعة صغيرة من ح ن ر (RNA) تكون مربوطة تشاركيًا في قطع ح ن د (DNA) المخلقة حديثًا. لهذا فإن ح ن ر يعمل كبادىء لتخليق ح ن د ولقد وضح ذلك أن:

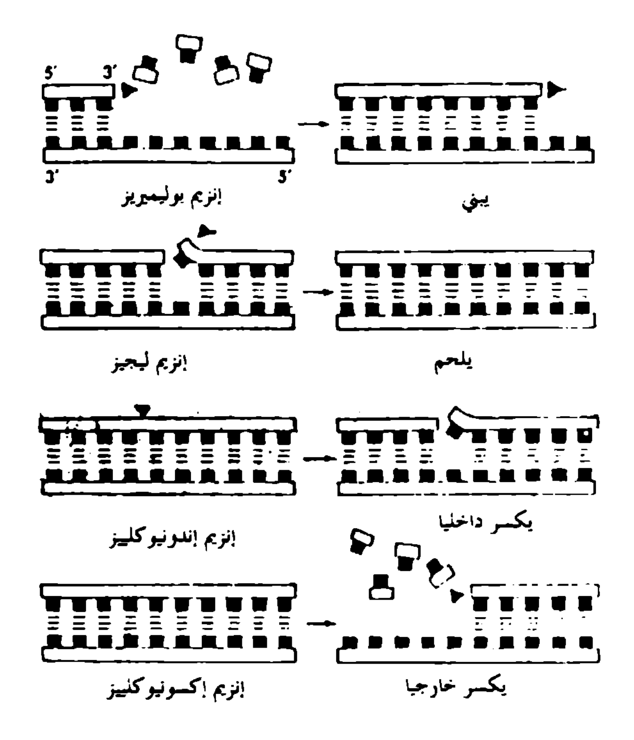
١ - إنزيم مبلمر ح ن ر RNA polymerase يخلق قطعة صغيرة على ح ن د (نحو ١٠٠٠نيوكليوتيدة) تكون مكملة لأحد خيطي ح ن د (القالب)، وعلى عكس إنزيم مبلمر ح ن د، فإن إنزيم مبلمر ح ن ر لا يحتاج إلى بادىء لبداية تخليق عديد النيوكليوتيدات.

٢ - تعمل مجموعة 3 - OH´ الطرفية في سلسلة ح ن ر كبادىء لتخليق ح ن د الجديدة (نحو ١٠٠٠نيوكليوتيدة).

٣ - بعد ذلك، يتحلل ح ن ر البادىء وتترك إزالة هذا البادىء فراغات Gaps تملأ بوساطة إنزيم مبلمر ح ن د.

(٥,٢,٣,١٥) عديد من البروتينات اللازمة لتخليــــق ح ن د Many proteins are required for DNA synthesis: إن تكاثر ح ن د عملية معقدة وعلاوة على وجود إنزيمات مبلمرة ح ن د ومبلمرة ح ن ر ومربِّطة ح ن د DNA-ligase، فإن أنواعًا أخرى من البروتين تشارك في هذه العملية. إذ إنه في خلية البكتيريا يوجد أكثر من ٢٠ بروتينًا تكون ضرورية لتكاثر ح ن د واحد منها إنزيم محلل الحامض النووي داخليًّا Endonuclease، إذ أن ح ن د الدائري في بعض الفيروسات لا يمكن أن يؤدي وظيفته كقالب؛ لأنه في شكل خيطين لا يمكن أن يتفككا وينفصلا، ولذا فإن انفلاق الهيكل على الأقل في خيط واحد يكون ضروريًا لبداية تكاثر ح ن د، وبذا فإن فتح مناطق

موضعيـة في حلـزون ح ن د المـزدوج ييسـر Facilitated لبروتينـات التفكيـك النوعيـة Specific unwinding proteins.، وهذه البروتينات تشبك تفاضليًّا بالخيط المفـرد مـن ح ن د. وهذه العملية تعاونية بحيث إن شبك بروتين التفكيك لـ ح ن د يزيد مـن ربـط بروتـين الشبك الثاني وهكذا مما يسرع من تفكيك الحلزون المزدوج في أشواك التكاثر، ويوضح الشكل رقم (٣١) بعض هذه الإنزيمات اللازمة للتكاثر.



الشكل رقم (٣١). توضيح لعمل أربعة من الإنزيمات المختصة ببناء روابط النيوكليوتيـدات في ح ن د DNA وتكسيرها.

الفصل السادس

أنواع الحموض النووية الموجودة في الفيروسات
Types of Nucleic Acids Found In viruses

توجد أربعة احتمالات لأنواع الحامض النووي الفيروسي هي: ح ن د مفرد الخيط s.s-DNA و ح ن ر مفرد الخيط s.s-RNA و ح ن د مزدوج الخيط d.s-DNA و ح ن ر مزدوج الخيط d.s - RNA.

(٦,١) ح ن د مفرد الخيط S.S-DNA

مثل فيروس مذنب الأدنو Adeno - satellite virus وفاي إكس – ١٧٤ (ϕX- 174) وإف دي (fd) وفيروسات بارفو Parvo viruses والفيروسات التوأمية Gemini viruses.

ولكن هذا النوع ليس شائعًا جدًا في فيروسات البكتيريا وينتشر أكثر في الأشكال الخيطية للاقم البكتيريا. أما في النبات، فهو نادر جدًا ويوجد، فقط، في فيروس تبرقش الذرة الأصفر Maize streak virus وغيره من الفيروسات التوأمية Gemini viruses. أما في فيروسات الحيوان فهو شائع وعادي.

(٦,٢) ح ن ر مفرد الخيط S.S-RNA

مثل فيروس شلل الأطفال Poliovirus وتبرقش التبغ TMV والإنفلونزا Influenza وشوطة الفراخ (نيوكاسل) Newcastle Disease، وفيروس إصفرار اللفت

المبرقش Turnip yellow mosaic virus وفيروس السعار Rabies virus وفيروس بطاطس إكس Potato virus x (PVX)، وكذا فيروسات البكتيريا مثل كيوبيتا Qβ أو آر - ١٧ (R-17) وإم إس٢ (MS2) وسندبيس Sindbis وطاعون البقر Riderpest وفيروس مرض الأيدز AIDS virus.

وهذا النوع ليس شائعًا جدًّا في فيروسات البكتيريا، وهو أكثر وجودًا في فيروسات النبات وشائع في فيروسات الحيوان.

(٦,٣) ح ن د مزدوج الخيط d.s - DNA

مثل فيروس جدري الإنسان Smallpox، وجدري البقر Cowpox، والقوباء Herpes و أدنو Adeno، والسرطان الحلمي Papilloma، وبوليوما Ployoma، ولاقمات البكتيريا القولونية ت٢ (T2) إلى ت٧ (T7)، وفيروس إريدو Irido virus للحشرات، وفيروس تبرقش القرنبيط Cauliflower mosaic virus. وهذا النوع أكثر شيوعًا في فيروسات البكتيريا، ونادرًا في فيروسات النبات، وشائعًا في فيروسات الحيوان.

(٦,٤) ح ن ر المزدوج الخيط d.s RNA

مثل فيروس إسهال الأطفال روتا Rota، وفيروس شنودة Chenuda المعزول عن عزبة شنودة بمصر، وفيروس سرطان الجرح في البرسيم Wound tumor virus، وطاعون الخيل الإفريقي African horse sickness (AHSV)، واللسان الأزرق Blue-tongue disease في الغنم وحمى قراد كولورادو Colorado tick fever، وفيروس الأرز القزم Rice dwarf virus، وفيروس عديد الأوجه الستوبلازمي في دود الحرير Cytoplasmic polyhedrosis (CPV) of silkworm، ولاقم البكتيريا فاي ٦ (ϕ 6) الذي يصيب بكتيريا الفاصوليا *Pseudomonas phaseolicola*. وهذا النوع نادر في فيروسات البكتيريا ولا يوجد في النبات إلا في بعض أنواع تتبع عائلة ريو Reoviridae. أما وجوده في الحيوان فشائع.

(٦,٥) كيفية تحديد نوع الحامض النووي الفيروسي (الجدول رقم ٣)

يمكن تحديد نوع الحامض النووي الموجود في الدقائق الفيروسية عن طريق صبغها بصبغة برتقالي الأكريدين Acridine orange ، وذلك بتنقية الفيروس ثم تجفيفه على شريحة زجاجية ، ويثبت في محلول كارنوي Carnoy solution ، ثم يصبغ ببرتقالي الأكريدين. ويعد هز الشرائح في محلول فوسفات الصوديوم أحادية الهيدروجين $Na_2 HPO_4$ تفحص الشرائح تحت مجهر مضاء بأشعة فوق بنفسجية قصيرة. ولتحديد نوع الحامض النووي ح ن د (DNA) أو ح ن ر (RNA) يوضع على الشريحة قطرات من محلول حمض الموليبديك Molybdic acid.

الجدول رقم (٣). تفاعلات الحموض النووية مع برتقالي الأكريدين.

نوع الحامض	اللون الناتج مع فوسفات الصوديوم أحادية الهيدروجين	حامض موليبديك
١ – ح ن د – مزدوج الخيط	أخضر	أخضر
٢ – ح ن ر – مزدوج الخيط	أخضر	أخضر باهت
٣ – ح ن د مفرد الخيط	أحمر	أخضر شاحب
٤ – ح ن ر – مفرد الخيط	أحمر	أحمر شاحب

ويمكن تحديد أنواع الحموض النووية عن طريق تحليل القواعد النتروجينينة ، فإذا وجد ثايمين كان ح ن د. أما إذا وجد يوراسيل فيكون ح ن ر. وكذلك عن طريق تعيين نسبة القواعد U:Aأو G: C,T كما يمكن التفرقة بين الخيوط المزدوجة والمفردة ، ولكن هذا يحتاج إلى مزيد من التأكيد.

(٦,٦) أشكال الكروموسومات الفيروسية Forms of Viral Chromosomes:

إن مصطلح كروموسوم (صبغي) يعني، فقط، الأجسام التي تحتوي على ح ن د عميق الاصطباغ والذي يمكن مشاهدته في أنوية خلايا الكائنات أثناء انقسامها وعند صبغها بصبغة قاعدية مثل صبغة فولجين.

أما المادة الوراثية للبكتيريا والفيروسات فإنها لا تنتظم في مثل هذه التراكيب لكنها ذات تركيب أساسي واحد في جميع الكائنات، ومع هذا، فإننا نميل إلى تسمية جزيئات المادة الوراثية الفيروسية باسم كروموسومات أو مورثات Genomes (مجينات)، وتوجد عدة أنواع من الكروموسومات الفيروسية مثل:

(٦,٦,١) كروموسومات مفردة الخيط دائرية

:Single-stranded circular chromosomes

مثل لاقم البكتيريا فاي إكس ١٧٤ (ϕ X- 174) وإف دي (fd) ذات ح ن د s.s DNA- المفرد والتي تصيب البكتيريا القولونية. وهذه الكروموسومات لا تحتوي بالضرورة على نسب متساوية من الأدينين: ثايمين أو جوانين: سايتوسين؛ لأنها ليست من خيوط مزدوجة. وعادة ما توجد داخل الفيروس كحلقات (دائرية)، وسلسلة عديد النيوكليوتيدات تنقفل على نفسها ببساطة لتكون هيكلاً متصلاً. والوزن الجزيئي للاقم البكتيريا فاي إكس - ١٧٤ (ϕ X - 174) يساوي ٦,٢ × ١٠^{٦} دالتون، بينما الوزن الجزيئي للمورث ١,٦ × ١٠^{٦} دالتون في حين أن محتوى C:G = ٤٨٪، وهذا المورث يكون، عادة، أكثر لفًا أو حلزونيًا متضاعفًا Super coiled. وهذا هو التركيب الرباعي Tertiary أي أن كل لفة تعود وتلتف مثل شلة الخيط.

(٦,٦,٢) كروموسومات عصوية ذات نهاية "لاصقة"

Rod - shaped chromosomes with sticky ends:

ويمثل هذه الحالة لاقم البكتيريا لامدا λ(Lambda) الذي يصيب البكتيريا القولونية، وهو كروموسوم عصوي الشكل مزدوج الخيط من ح ن د (DNA) عندما

يكون خارج خلية العائل، ولكن الكروموسوم الطولي ينقفل سريعًا بعد الإصابة على نفسه ليكون حلقة ذات روابط تشاركية مع بعض المناطق التي يكون فيها فوق التفاف والتي تعتمد على درجة الحرارة والوسط الأيوني. ويكون هذا الكروموسوم مزدوجًا في نحو ٥٠,٠٠٠ من أزواج النيوكليوتيدات، أما الإثنتي عشرة نيوكليوتيدة التي توجد على الطرفين من كلا الخيطين، فتمتد بعد الحلزون المزدوج كسلسلتين مفردتين من عديد النيوكوكليوتيدات. ويطلق على هذه الكروموسومات أنها ذات أطراف "لاصقة" Sticky؛ لأن القواعد الممتدة تكون مكملة لبعضها بعضًا. ولسبب غير معلوم، لا يتم ازدواج هذه القواعد المفردة داخل رأس لاقم البكتيريا، ولكن عندما يدخل الكروموسوم خلية البكتيريا القولونية يحدث أن تتقابل النهايات المفردة، وتزدوج القواعد وتتكون حلقة مربوطة هيدروجينيًا. يلي ذلك أن تساعد بعض الإنزيمات على تكوين روابط ثنائي إستر الفوسفات في منطقة الروابط الهيدروجينية، وبذا تنتج حلقة مقفلة مرتبطة تشاركيًا. وطول الكروموسوم في شكله الطولي ١٧ ميكرونًا، ووزنه الجزيئي ٣٠ × ١٠^٦ دالتون، بينما وزنه الجزيئي داخل الخلية يكون ٦٦ × ١٠^٦ دالتون.

(٦,٦,٣) الكروموسومات العصوية دائرية التغير

Rod - shaped chromosomes, circularly permuted:

إن نوعًا رابعًا من فيروسات ح ن د (DNA) يشمل لاقمات البكتيريا "ت" الزوجية T-even phages مثل T_2 ، T_4، إذ تكون كرموسوماتها عصوية كحلزون مزدوج، ولا توجد في حلقات داخل الدقيقة الفيروسية أو خلية العائل.

وللكروموسوم العصوي نهايتان، فلو تصورنا أن ترتيب الجينات ممثلاً لها بالرموز على طوله هو ABCDEFG، إذن فلا بد أن يكون فيها الجينان A , G هما أقصى الطرفين المتباعدين. ويمكن تحديد ترتيب الجينات بوساطة تقنيات تعرف كلها بالخرائط الوراثية Genetic maps، وعندما تعمل خريطة لـ T_4، فإن نهايات الكروموسوم لا يمكن أن توجد. ولكن، بدلاً من ذلك، نجد أن جين G يكون قريبًا من جين A في مثل قربه

من جين F وأبسط تفسير لذلك أن يوجد الكروموسوم في شكل دائري، وبالطبع، لا يكون لهذه الدائرة أطراف. أما التفسير الحقيقي للشكل العصوي للكروموسوم والخريطة الدائرية فقد تأكد من:

أولاً: اكتشف أن تتابع النيوكليوتيدات في الكروموسوم يتكرر عند الأطراف Terminal repititions وهذا يعني أن "المقرر" "Text" الوراثي يتكرر مرات ومرات عند نهاية الكروموسوم. وباستخدام التشبيه السابق، فإن كروموسوم T4 من لاقم البكتيريا واحد يمكن أن يقرأ ABCDEFGAB على عكس لاقم البكتيريا λ الذي تكون فيه التكرارات الطرفية تمثل ١٢ نيوكليوتيدة في نهاية الأطراف المفردة، في حين أن التكرارات الطرفية في T4 قد تصل مابين ٢٠٠٠ - ٦٠٠٠ نيوكليوتيدة وكلها مزدوجة القواعد في مزدوج ح ن د (DNA).

ثانيًا: لقد وجد أن ح ن د (DNA) من دقيقة T4 ثانية، ليس تمامًا مثل الأول على حين تكون تكراراتها الطرفية تكرارًا لأجزاء أخرى من الكروموسوم مثل CDEFGABCD وكروموسوم ثالث يقرأ FGABCDEFG وهذه التوليفات، على سبيل المثال، توجد بنسبة متساوية في مجتمع من T4، وللصياغة الدقيقة فإن كل كروموسوم من لاقم البكتيريا T4 يكون نوعي التغيير الدائري لتتابع نيوكليوتيدي عام هو ABCDEFG وأن التكرار الطرفي يكون لمنطقة معينة التتابع والتي حدث أن بدأ عندها الكروموسوم. وبذا فإن كلمة تغيير Permuted تعني التبديل الداخلي Interchange أو ترتيب الجينات في كل نظام ممكن.

(٦,٦,٤) كروموسومات عصوية بدون تغير دائري

Rod - shaped chromosomes without circular permutation:

يمثل لاقم البكتيريا T7 المجموعة الخامسة من فيروسات ح ن د (DNA) والتي يكون كروموسومه عصوي الشكل ذا تكرارات طرفية، ويمكن كتابته كما يلي ABCDEFGAB وكل الكروموسوم مزدوج الخيط، وهذا يعني أن أطرافه لا تمثل

النهايات اللاصقة من كروموسوم لاقم البكتيريا λ . وأخيرًا، فإن لاقمات البكتيريا T7 يكون لها التابع الجيني المتميز نفسه ABCDEFGAB ، ولا تتغير الكروموسومات دائريًا.

(٦,٦,٥) كروموسومات ح ن ر مفردة صغيرة

:Small single - stranded RNA chromosomes

مثل لاقمات البكتيريا R17 , Qβ التي تصيب البكتيريا القولونية.

(٦,٦,٦) كروموسومات الفيروسات الحيوانية الصغيرة ذات ح ن ر المفرد

Small single - stranded RNA chromosome of animal viruses

مثل فيروس شلل الأطفال Poliomyelitis وفيروس مرض القدم والفم Foot and mouth disease (الحمى القلاعية).

(٦,٦,٧) كروموسومات ح ن ر مفردة طويلة

Large single - stranded RNA chromosomes

مثل فيروس تبرقش التبغ TMV وفيروس مرض نيوكاسل (شوطة الدجاج) Newcastle disease والسعار Rabies والحصبة Measles والطاعون البقري Rinderpest.

(٦,٦,٨) كروموسومات ح ن ر مفردة ومجزأة

Single-stranded RNA segmented chromosomes

مثل أنواع فيروسات الإنفلونزا Influenza والتي تحتوي على ٥ - ٨ قطع منفصلة من الكروموسومات، وهي عبارة عن ح ن ر مفرد الخيط.

(٦,٦,٩) كروموسومات ح ن ر مفرد كبيرة تتحول داخل الخلية المصابة إلى ح ن د

Large single stranded RNA chromosomes changed into DNA chromosomes inside the infected cell

وهي تتحول إلى ح ن د DNA مزدوج في الخلايا المصابة المتحولة المصابة Transformed (أي السرطانية)، ومثال ذلك فيروسات ح ن ر المسببة للسرطان مثل

ساركومة راوس Rous sarcoma، ولوكيميا الفئران Murine leukemia، وسرطان الثدي في الفئران Mouse mammary tumor، وفيروس الأيدز AIDS والمسمى إتش آي في HIV، وتحتوي كل الفيروسات على إنزيم النسخ العكسي Reverse transcriptase وهو الذي ينسخ ح ن ر إلى ح ن د، ويمكن للكروموسوم الفيروسي ح ن د أن يتكامل Intgerates مع كروموسوم الخلية المصابة مسببًا السرطان في معظم الحالات، فيما عدا فيروس HIV المسبب للأيدز فلا يسبب سرطانا. وتضم كل هذه الفيروسات في عائلة واحدة تسمى العائلة العكسية Retroviridae. وكروموسوم هذه الفيروسات في الفيريون يتكون من جزءين مكررين من ح ن ر مفرد الخيط سالب المعنى.

(٦,٦,١٠) كروموسومات ح ن ر مزدوجة Double stranded RNA chromosomes:

وهذه الفيروسات يحتوي كل منها على ١٠-١٢ قطعة Segment من الكروموسوم ح ن ر المزدوج d.s-RNA ومن أمثلتها عائلة ريو Reoviridae التي تضم فيروسات تصيب الإنسان مثل فيروس ريو Reo وفيروس الإسهال Rota وفيروس السرطان الجرحي Wound tumor في النبات، وفيروس مرض اللسان الأزرق في الغنم Blue tongue disease وفيروس شنودة Chenuda وفيروس طاعون الخيل كما يحتوي لاقم البكتيريا فاي - ٦ (ϕ 6) الذي يصيب بكتيريا الفاصوليا *Pseudomonas phaseolicola* على ثلاث قطع من ح ن ر مزدوج الخيط d.s-RNA.

(٦,٦,١١) كروموسومات ح ن ر مفردة موزعة بين أكثر من دقيقة فيروسية

Single - stranded RNA chromosomes distributed among more than one virus particle

وفي هذه الحالة، نجد أن المادة الوراثية للفيروس موزعة على أكثر من دقيقة فيروسية، ولكنها لازمة لإحداث الإصابة والتكاثر. ويطلق عليها الفيروسات عديدة الدقائق Multiple particles أو التي تتوزع محتوياتها في أكثر من دقيقة Multipartite. وهذا الوضع الغريب يوجد، فقط، في بعض فيروسات النبات مثل فيروس تبرقش البرسيم

الحجازي Alfalfa mosaic (٤ - ٥ دقائق)، وفيروس خشخشة التبغ Tobacco rattle (دقيقتين) وتبرقش البسلة المثألل Pea enation mosaic (دقيقتين)، وفيروس تقزم الشعير Barley yellow dwarf (٣ دقائق)، وتبرقش الخيار Cucumber mosaic virus (٣ دقائق)، وتبرقش اللوبيا Cowpea mosaic (دقيقتين).

الفصل السابع

عملية الإصابة الفيروسية والتكاثر

The Process of Virus Infection & Multiplication

كيف يدخل الفيروس إلى الخلية؟ وما الأطوار التي تمر بها دورة تكاثر الفيروس؟.. وكيف تظهر الفيروسات؟ وما الدليل على حيويتها Viability وأنها كائن حي Living organism؟

وأخيرًا، وليس بآخر، كيف يمكن للفيروسات أن تحافظ Maintain على نفسها جيلاً بعد جيل بهذه الدقة المعجزة من الشكل والتركيب والوراثة بل والسلوك.

سوف نطرق الباب ونتلمس الطريق نتتبع الفيروس ونلاحظه ونكتب ما يفعله هذا المخلوق الساحر المتخفي!! إذ تتلخص عملية إصابة الفيروس في أربعة أطوار هي: طور الدخول Getting in، طور التكاثر Multiplication، طور التجميع Assembly، طور التحرر Release.

(٧,١) طور الدخول Stage of Getting in

وهو الطور الابتدائي Initial في عملية إصابة الفيروس والذي يتضمن الخطوات steps التالية:

١ - الاتصال Attachment.

٢ - الإدمصاص Adsorption.

٣ - الاختراق Penetration.

٤ - التقشير Uncoating.

(٧,١,١) الاتصال Attachment

تبدأ علمية الإصابة في خطوتها الأولى بأن يصل الفيريون (الدقيقة الفيروسية الكاملة الحية المعدية) إلى الخلية العائلة الحساسة Susceptible host cell القابلة للإصابة بهذا الفيروس، وهو في هذا الشأن يمتلك الوسيلة للوصول من العائل المصاب إلى العائل السليم. وتحدث هذه العملية عن طريق الاتصال المباشر بين الفيروس والسطح الخارجي للخلية. وعادة ما ييسر هذا الاتصال Contact نظرًا لوجود تراكيب شكلية Morphological وكيميائية Chemical على السطح الخارجي للفيريون، وأيضًا، لوجود مواقع خاصة Specific loci (عبارة عن مواضع استقبال Receptor sites خاصة ونوعية لهذا الفيروس بالذات) والتي توجد على السطح الخارجي للخلية. ومن التراكيب السطحية التي تيسر هذا الاتصال نذكر، على سبيل المثال:

(أ) امتدادات أو أشواكًا projections or spikes (مثل الإنفلونزا Influenza، الحصبة Measles، والسعار Rabies والقوباء Herpes، وفيروس الأيدز AIDS.

(ب) تراكيب كيميائية خاصة مثل:

- بروتين أ Protein A كما في فيروس شلل الأطفال Polio.
- الألياف Fibres كما في فيروس الغدد "أدنو" Adeno.
- معقد الاتصال Attachment complex كما في لاقمات البكتيريا المذيلة Tailed phages.
- أركان الفيريونات Corners of virions مثل لاقم البكتيريا فاي إكس - ١٧٤ (ϕx-174).

وتوجد مواضع الاستقبال على شكل تراكيب كيميائية نوعية على سطح الخلية مع ميل خاص Specific affinity لنوع معين من الفيروسات تتفاعل معه وتشبك به، فقط.

وتستقر كل مواضع الاستقبال على السطح الخارجي للخلية الحيوانية للإنسان والحيوان والحشرات، أما في المايكوبلازما Mycoplasma فتوجد على الغشاء

البلازمي الخلوي الخارجي، على حين أن مواقعها في البكتيريا قد تتنوع. إذ إن مواضع الاستقبال قد توجد في موضع واحد أو على عدة مواضع من الخلية وتراكيبها مثل: المحفظة Capsule إن وجدت - أو طبقات الجدار الخلوي الخارجية أو الداخلية، أو على قمة أو جوانب الأسواط Flagella وعلى قمة أو جوانب الأوبار Pili. أما الخلايا النباتية فلا تحتوي على أية مستقبلات خاصة للفيروسات نظرًا لوجود جدار خلوي سيليلوزي أو ملجنن على سطح هذه الخلايا مما يجعل اختراق الفيروس منه مستحيلاً.

(٧,١,٢) الإدمصاص Adsorption

إن الخطوة الثانية هي إدمصاص الفيريون إلى موضع الاستقبال بشدة Firmly، وتتضمن هذه العملية تكوين روابط كهرواستاتيكية Electrostatic bonding بين مكونات الفيروس السطحية وبين المكونات الكيميائية لمواضع الاستقبال. وتتوقف عملية الإدمصاص بالنسبة لفيروسات الحيوان والبكتيريا على:

(أ) درجة الحرارة.

(ب) القوة الأيونية Ionic strength.

(جـ) وجود كاتيونات Cations خاصة ثنائية التكافؤ Divalent.

هذا فضلاً عن أنها عملية عكسية Reversible. وتوجد على خلايا الإنسان والقرود الحساسة لفيروس شلل الأطفال نحو ٣٠٠٠ موضع استقبال للخلية الواحدة، إذ أنها تشغل مساحة ٣,٢٪ من مساحة سطح الخلية. أما بالنسبة لخلية الدجاج فيوجد عليها ١٠٠,٠٠٠ موضع استقبال لفيروس سندبيس Sindbis virus (يتبع العائلة العبائية Togaviridae، معزول من قرية سندبيس بمصر)، كما يتضح من الصور بالمجهر الإلكتروني المساح Scanning electron microscope، باستخدام تقنية القشر التكراري للسطوح Surface replica (الشكل رقم ٣٢).



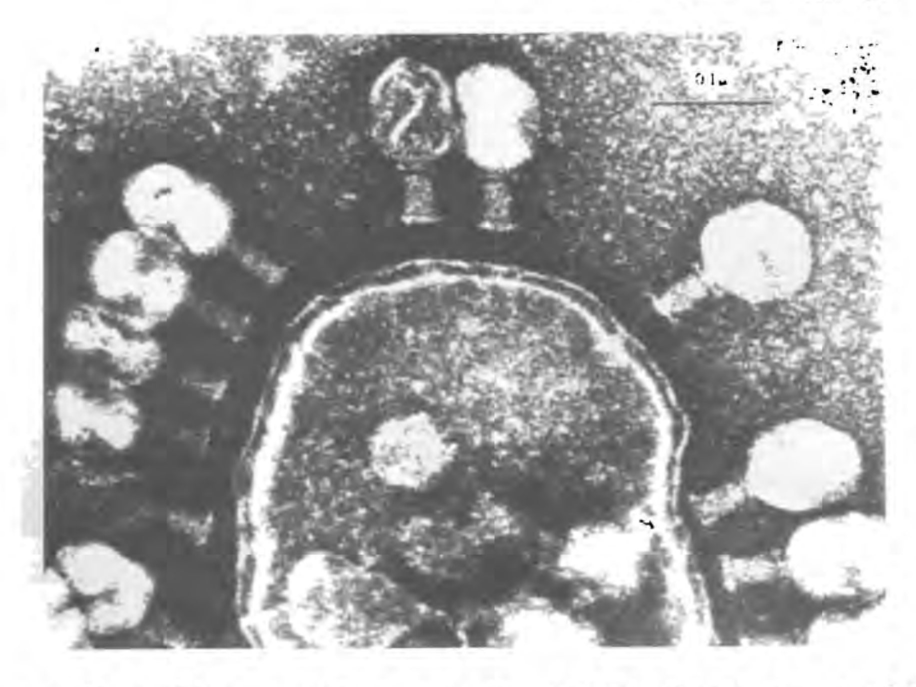
الشكل رقم (٣٢). تكرارات سطحية لفيروس سندبيس مدمصًا على سطح خليتين من الدجاج تبين كثرة مواضع الاستقبال (جوكليك ١٩٨٠م).

أما بالنسبة لفيروسات البكتريا، فإنه يوجد العديد من المستقبلات على التراكيب السطحية للخلايا البكتيرية كما يشاهد ذلك في حالة البكتيريا القولونية عند إصابتها بلاقم البكتيريا T_4 (الشكل رقم ٣٣).

ولاقم البكتيريا f1 (خيطي) و f2 (كروي) يتصلان على الوبرة Pilus من خلية البكتيريا القولونية (الشكل رقم ٣٤ أ). وكذلك لاقم البكتيريا MS2 (كروي) و M13 خيطي على البكتيريا القولونية (الشكل رقم ٣٤ ب).

ويطلق على عدد الدقائق الفيروسية أو الوحدات المعدية المدمصة على كل خلية تعددية الإصابة Multiplicity of infection (m.o.i)، وللخلايا الحيوانية قدرة كبيرة على إدمصاص أعداد كبيرة جدًا من الفيروسات كما هو مع فيروس سندبيس، على

سبيل المثال: ومعمليًا، تكون تعددية الإصابة مساوية واحدًا إذا كانت كل خلية تستقبل فيريونًا واحدًا.. وهكذا.



الشكل رقم (٣٣). خلية البكتيريا القولونية متحللة جزئيا تبين اتصال وادمصاص لاقمات البكتيريا ت – ٤. كما يلاحظ تقبض أغماد بعضها (لوريا وآخرون ١٩٧٦م).

(٧,١,٣) الاختراق Penetration

الاختراق هو دخول الفيروس كاملاً أو مادته الوراثية (في أنواع معينة من لاقمات البكتيريا) إلى داخل الخلية، وتختلف آلياته على حسب نوع الفيروس والعائل:

(٧,١,٣,١) فيروسات الحيوان

توجد ثلاث آليات لاختراق فيروسات الإنسان والحيوان للغشاء البلازمي، تلك التي تكون قد اتصلت وشبكت بمستقبلاته وتم إدمصاصها، وهي:



(أ)



(ب)

الشكل رقم (٣٤). أ – دقيقتا لاقم البكتيريا (f1) الخيطي متصلتان بقمة وبرة خصوبة (F-pilus) لخلية مذكرة من البكتيريا القولونية (*E. coli*) كما يلاحظ العديد من دقائق لاقم البكتيريا (f2) الكروية متصلة على جانب الوبرة.
ب – لاقم البكتيريا (M13) الخيطي ولاقم البكتيريا (MS2) الكروي متصلان بوبر البكتيريا القولونية (عن: لوريا وآخرون ١٩٧٨م).

١ – الاختراق المباشر Direct penetration

ويحدث ذلك، غالبًا مع بعض الفيروسات غير المغلفة والتي تمر مباشرة من خلال الغشاء الخلوي، ويفترض أن يكون ذلك مصحوبًا بتوسيع المسافات وتفكيك الأجزاء المكونة للغشاء بما يسمح بمرور الفيريونات للداخل والغرض الثاني هو زيادة انصهار Melting دهون الغشاء البلازمي وسيولته Fluidity بما يسمح بدخول الفيروس. مثال ذلك فيروس أدنو وفيروس شلل الأطفال.

٢ – الابتلاع الداخلي Endocytosis

ويبدأ ذلك عندما ينطوي Folds غشاء الخلية للداخل نقرة Pit "ويبتلع" Engulfing الفيروس. عندئذ، يحاط الفيروس تمامًا بالغشاء الذي ينفصل Detaches كمثانة Vesicle تحيط بالفيروس ويدخل به إلى داخل الخلية وهو محوط بفجوات ابتلاعية Phagocytic vacuoles مثل فيروس جدري الإنسان Vaccina virus.

٣ – اندماج الغشاء Membrane fusion

وتقتصر هذه الآلية على الفيروسات المغلفة (Enveloped (membraned ؛ ففي هذه الحالة، تحدث تغيرات في أغشية الخلية وأغلفة الفيروس بما يسمح بصهر Melting ودمج Fusion الغلافين مع حدوث حركة مؤداها إدخال الفيريون إلى داخل الخلية بعد أن يكون قد انفرط من الغلاف الذي بقي جزءًا من غشاء الخلية ودخل الفيريون على شكل غطاء نووي Nucleocapsid. ومن أمثلتها فيروسات العائلة شبه المخاطية. ينحصر للداخل مكونًا بذلك جسمًا داخليًّا Endosome يتفاعل مع الجسم المحلل ليسوزوم Lysosome بعد انصهار غشاء الخلية المحوط بالفيروس مع غشاء الليسوزوم، وبعدها يخرج الفيروس من الليسوزوم بدون أية أغلفة ليستقر في السيتوبلازم، ومن أمثلة هذه الفيروسات التي تدخل بالآلية الثانية فيروسات عائلة رابدو Rhabdoviridae وفيروسات العائلة العبائية Togaviridae.

٤ – بالمفصليات By arthropods

تقتصر هذه الآلية على مجموعة أحيائية من الفيروسات التي تصيب الإنسان والحيوان، وتسمى الفيروسات المنقولة بالمفصليات Arthropod borne viruses (واختصارًا ARBO viruses). وتشمل هذه المفصليات الناقلات Vectors ، ومنها التي تتميز بأجزاء فم ثاقب ماص Piercing sucking.

(٧,١,٣,٢) فيروسات البكتيريا

١ - لاقمات البكتيريا المذيلة Tailed -Bacteriophages

تمتلك لاقمات البكتيريا مثل T2 , T4 وغيرها ذيولاً تتميز بأنها متقبضة Contractile ، ففي الحالة العادية المفرودة Extended state ، يتكون كل ذيل من ٢٤ حلقة تحيط بالمحور. وكل حلقة Ring تتكون من ست تحت وحدات Subunits من حجم واحد صغير وست تحت وحدات من حجم أكبر. ويحدث عقب الادمصاص أن يتقبض الذيل نتيجة دمج Merging تحت الوحدات الصغيرة مع الكبيرة لتكون ١٢ حلقة ، كل حلقة تصبح من ١٢ تحت وحدة. ويؤدي ذلك إلى دفع Pushing محور الذيل Core (الأنبوبة المركزية Central tube) غير المتقبض خلال الطبقات الخارجية للخلية البكتيرية بوساطة حركة التفافية Twisting ، وبهذه الحركة يحدث إدخال وقذف Ejaculation للمادة الوراثية (ح ن د المزدوج DNA الخيط الموجود برأس لاقم البكتيريا) إلى داخل الخلية ، وتسهل هذه العملية الإنزيمات المحللة الهادمة Lysozymes الموجودة بغمد Sheath ذيل لاقم البكتيريا ، كما أن الذيل يحتوي على ١٤٤ جزيئًا من أدينوسين ثلاثي الفوسفات ATP الذي يمد هذه العملية بالطاقة اللازمة.

٢ - أنواع لاقمات البكتيريا الأخرى

إن لاقمات البكتيريا الخيطية Filamentous والكروية Spherical ، وكذلك تلك التي يكون لها ذيول غير متقبضة Non-contractile tailed-phages ، والتي تتصل بأوبار الجنس Sex pili أو بالأسواط عادة ما يحدث اختراق لها عن طريق تراجع Retraction الأوبار أو من خلال أنيبيبات Tubules الأسواط.

(٧,١,٣,٣) فيروسات النبات

لا توجد أية مستقبلات لكل الفيروسات النباتية ، وذلك لأن الخلايا النباتية تمتلك جدرًا خلوية صلبة متينة من السيليلوز. بناءً عليه ، فإن الجدار الخلوي يشكل

مانعًا Barrier ضد دخول الفيروس، ولذا، فإن فيروسات النبات تبدأ إحداث إصابتها باختراقها المباشر Direct penetration إلى السيتوبلازم، ويحدث إدخال الفيروس بالقوة Forcing إلى داخل الخلايا طبيعيًّا Naturally بوساطة الحشرات Insects ذات الفم الثاقب الماص (المن والذبابة البيضاء White flies، والتربس Thrips، ونطاط الورق Leaf hoppers)، أو الديدان الاسطوانية Nematodes، أو عن طريق السابحات الجرثومية Zoospores لفطر أولبيديم *Olpidium* (رتبة كتريديالات Chytridiales)، وكذلك عن طريق الممصات Haustaria (الساقية في الحامول *Cuscuta* spp. أو الجذرية في الهالوك *Orabanche* spp.). كما أن بعض الفيروسات تخترق مباشرة إلى المبيض مع حبوب اللقاح Pollen grains أو من خلال البذرة التي تحتوي الفيروس في الجنين، أيضًا. وتعد عملية التجريح Wounding وكسر Breakeage الشعيرات الجذرية في التربة والشعيرات الهوائية على السيقان والأوراق والثمار وسيلة أخرى يضاف إليها عملية التطعيم Grafting في التكاثر الخضري، كما أن وسائل التكاثر الخضري الأخرى تنشر الفيروس. إلا أنه يجب، أيضًا، ذكر أن من أهم وسائل اختراق الفيروسات النباتية وهي داخل النبات وانتقالها من خلية إلى أخرى، يكون عن طريق الخيوط البلازمية Plasmodesmata.

فضلاً عن ذلك، فإن بعض العمليات الزراعية مثل التقليم Pruning وجني الثمار Harvesting والسير واحتكاك الملابس بالنباتات من شأنه أن يكسر الشعيرات وينقل الفيروس من النبات المصاب إلى السليم. ونظرًا إلى أن عملية تجريح الخلايا النباتية هي التي تسهل اختراق الفيروسات إلى داخل الخلية، فإن هذه الطريقة تعد إحدى الوسائل الأساسية في إحداث عدوى صناعية في المعمل بوساطة رش النباتات بمادة خادشة Abrasive مثل كاربورندام Carborundum أوسيليت Celite وعند حكها Rubbing مع محقن الفيروس Virus inoculum تخترق الفيريونات الخلايا عبر الجروح، وتسمى هذه الطريقة بالحقن الميكانيكي Mechanical inoculation.

(٧,١,٤) التقشير Uncoating

يعني التقشير تحرير الحامض النووي الفيروسي من داخل العلبة والتراكيب الخارجية. وفي مثل هذه الحالة، فإن العلبة ذات الغطاء تتحلل بروتيناتها وتهضم بوساطة الإنزيمات. وبذا، فإن المورث الفيروسي يتحرر وحده ويصبح جاهزًا للبدء في عملية التكاثر داخل الخلية المصابة.

وفي الأحيان التي يتم فيها التقشير بوساطة عوامل مساعدة من الإنزيمات إما أن تكون محمولة مع الفيروس وإما أن تكون موجودة بالخلية. كما أن تحلل أغطية الفيروس قد يكون نتيجة لمجرد تعرض الفيروس للبيئة الكيميائية داخل الخلية، وبهذه الخطوة يكون قد انتهى طور الدخول.

(٧,٢) طور التكاثر Stage of multiplication

ويتضمن هذا الطور عدة مراحل وخطوات تشمل:

(٧,٢,١) النسخ المبكر Early transcription

يقوم المورث الفيروسي المحرر إما بالبقاء في السيتوبلازم وإما أن يرحل إلى النواة على حسب نوع الفيروس. وفي كلا الوضعين، فإن عملية التكاثر تسير قدمًا في أغلب أنواع الفيروسات والتي يلزم لها عملية تنشيط لإنزيمات البلمرة Activation of polymerases. ويعني النسخ Transcription تخليق ح ن ر - الرسول messenger RNA (m.RNA) (منسوخة transcript) والذي يتضمن تخليق رسالة وراثية مشفرة. تستخدم فيروسات ح ن د (DNA)، عادة، إنزيم النسخ الخاص بالخلية، على حين أن فيروسات الجدري تحتوي على إنزيم النسخ الخاص بها في داخل الفيريون. وفي فيروسات ح ن ر (RNA) مفرد الخيط موجبة المعنىPositive-sense تتم ترجمة المورث مباشرة دون الحاجة لأن ينسخ. أما فيروسات ح ن ر المفرد الخيط سالبة المعنى Negative sense ؛ مثل فيروسات رابدو Rhabdo وفيروسات الإنفلونزا والفيروسات شبه المخاطية

Paramyxo viruses ؛ وفي فيروس ريو Reo وهو من ح ن ر مزدوج الخيط ؛ فكلها سالبة المعنى وتحتوي على إنزيم النسخ Transcriptase الخاص بها، والذي إما أن يكون وحيد التكوين (Monocistronic) كقطع منفصلة أو أن تكون تراكيب أطول وعديدة الجينات: (عديدة التكوين Polycistronic) والتي قد تنشطر إلى قطع أصغر سواء قبل الترجمة أو بعدها. ويجري لخيوط ح ن ر - الرسول عملية أدنلة Adenylation عادة بإضافة عديد الأدنين Poly A عند مجموعة الهيدروكسيل من الطرف ٣َ (OH - 3َ) كما قد تضاف مجموعات ميثيل عند قواعد على الطرف ٥َ مكونة قلنسوة Cap لتسهيل بدء الترجمة. ويعرف هذا النسخ بأنه النسخ المبكر، ويشمل، أحيانًا، بعض المورثات (الجينات Genes) من المادة الوراثية. ويلزم النسخ المبكر من أجل تخليق البروتينات اللازمة لإكثار Replication المورث Genome (المجين الفيروسي)، مثل إنزيمات الحموض النووية Nucleases. ومع ذلك، فإن عملية نسخ ثانية تأخذ طريقها مؤخرًا في عملية الإصابة والتي تتضمن بعض المورثات الأخرى والتي تعرف بالنسخ المتأخر Late Transcription. وترحل المنسوخات Transcripts التي تتكون في النواة إلى السيتوبلازم.

وقد تمكن دافيد بالتيمور David Baltimore من تقسيم الفيروسات جميعًا إلى ستة أقسام بناء على الكيفية التي يخلق بها ح ن ر - الرسول (الشكل رقم ٣٥).

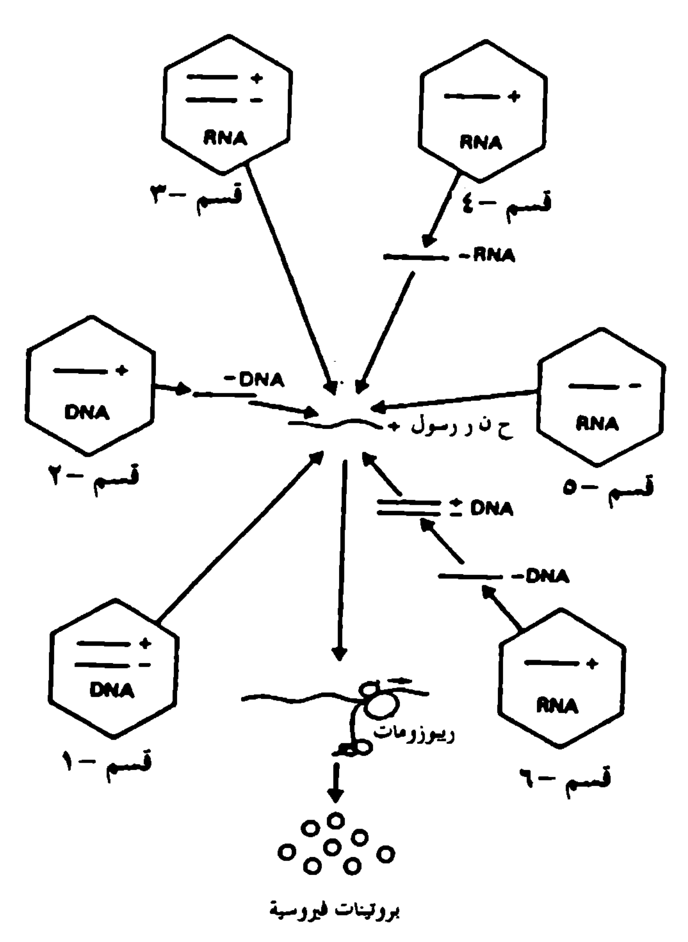
وفي كل الأحوال، تنقل المعلومات الوراثية الموجودة على مورث الفيروس، سواء ح ن ر - أو ح ن د، إلى جزيء ح ن ر - الرسول في صورة شفرات Condons. وقد يكون ح ن ر قطعة واحدة أو أكثر من قطعة، وقد يكون على كل القالب Template الوراثي أو على المنسوخات Transcripts.

(٧,٢,٢) الترجمة المبكرة Early Translation

يترجم ح ن ر - الرسول (mRNA) للفيروسات، في السيتوبلازم، وذلك بوساطة آلة تخليق Synthesizing machinery البروتين الخاصة بالخلية، أي: الريبوزومات

نظام تقسيم بالتيمور

صناعة ح ن ر الرسول الفيروسي



The routes by which different viruses make mRNA

الشكل رقم (٣٥). الطرق التي تصنع بها الفيروسات المختلفة ح ن ر - الرسول.

وح ن ر والاستطـالة Elongation والإنـهاء Termination ، مـع تحـور Modification طفيف بجريه الفيروس. ويمثل نوع ح ن ر - الرسـول (mRNA) نسـخة واحـدة لكـل موروثة تم نسخها. ويتصل عادة ح ن ر - الرسول المنشط Activated بريبوزومات عدة، على حسـب طولها، مكونة عديد الريبوزومـات Polyribosomes. وينتـج عـن قـراءة شـفرات Condons ح ن ر - الرسـول تخليـق عديـدات الببتيـد Polypeptides النوعيـة (البروتينات). وهذه البروتينات المخلقة مبكرًا يكون أغلبها إنزيمات وبالذات إنزيمات الحامض النووي Nucleaes التي تستخدم كعوامل مساعدة في تكاثر المورث الفيروسي.

(٧,٢,٣) التكاثر Replication

يحدث تكاثر المورث الفيروسي إما في السيتوبلازم وإما في النواة على حسب نوع الفيروس. ويعني التكاثر تضاعف Duplication المادة الوراثية الفيروسية لتكون عدة نسخ من نفسها. لهذا، فإن المورث الفيروسي يخدم كقالب Template لتخليق المورثات البنوية. ويتكـاثر كـل مـن فيروسـات ح ن د (DNA)، و ح ن ر (RNA) بعمليـة طبـع Copying ، إذ يخدم فيها خيط واحد كقالب لتخليق الخيط البنوي. ويلزم للمورث سواء مـزدوج الخيـط مـن ح ن د أو ح ن ر إنزيـم التفكيـك Unwindase لإزالـة الروابـط الهيدروجينية الموجودة بين الخيطين، ومن ثم، يفصلهما بعيدًا عن بعضهما. بعـد ذلك، يبدأ إنزيم مبلمر ح ن د أو مبلمر ح ن ر DNA or RNA polymerase (إنزيـم التكاثر Replicase) في القراءة Reading من نقطة البدء Initiation في وجودبـاديء Primer (مـن ح ن ر). ويستطيـل Elongates الحامـض النـووي المخلـق جيـدًا فـي الاتـجـاه مـن ٥ ← ٣ هيـدروكسيـل، مكـونًا قطـعًا مكملـة Complementary طولـهـا ١٠٠٠ - ٢٠٠٠ من القواعد النتروجينية. وتسمى هذه القطع قطع أوكازاكي Okazaki fragments والتي توصـل معًـا بـإنزيم اللحـام Ligase. وتصحـح، عـادة، الأخطاء والتي يمكن أن تحدث عند وضع نيوكليوتيدات في غير موضعـها، وذلـك باسـتخدام إنزيمـات محللـة الحمـوض النوويـة الداخليـة Endonucleases ، وتنتـهي

Terminated عملية التخليق عادة عند الوصول إلى نهاية الخيط الوراثي الأبوي والذي يعقبه انفصال الإنزيم ليبدأ دورة أخرى من التكاثر. ويعد تكاثر أي من الفيروسات ح ن د مزدوجة الخيط أو ح ن ر مزدوجة الخيط نصف محافظ Semiconservative ، بمعنى أن كل جزيء بنوي Daughter molecule يحتوي على خيط أبوي قديم والخيط الثاني يكون مخلقًا جديدًا. أما فيروسات ح ن د أو ح ن ر وحيدة الخيط فإنها ، عند تكاثرها ، تخلق من على مورثها موجب الشكل (+form) خيطًا مكملاً Complementary سالب الشكل (-form) ، والذي على الأخير ، يتم تخليق خيط آخر يكون مشابهًا للمورث ، أي موجب الشكل. وبذايتم تكوين خيطين مزدوجين أحدهما أبوي (+) والثاني مخلق (-) ليكونا الوسيط التكاثري (+) Replicative intermediate. ويستتبع تكوين الخيطين المزدوجين انفصالهما لتتكون نسخة من خيط بنوي جديد موجب الشكل والذي يكون مخلقًا تمامًا أي أنه غير محافظ.

وفي نهاية التكاثر ، نجد أنه ، سواء المورث الأصلي أو الطبعات الجديدة التي تخلقت عن تضاعفه ، تدخل في عدة دورات لتكون عدة مئات أو آلاف من هذه التكرارات Replica.

(٤,٢,٧) النسخ المتأخر Late Transcription

إن الوظيفة الأساسية للنسخ المتأخر هي تخليق البروتينات الفيروسية المتأخرة Late viral proteins والتي تستخدم ، عادة ، في تجميع Assembly الأغطية الفيريونية Virion coating ولتحرير Release الفيريونات الخلفة Progeny virions.

ويحدث النسخ المتأخر إما في السيتوبلازم وإما في النواة وتشمل هذه العملية كل مكررات المورث Genomic replica كما أن ذلك يتضمن النسخ لأماكن من المورثات (الجينات) غير تلك التي استخدمت في النسخ المبكر. وكما هو الحال مع النسخ المبكر ، فإن المنسوخات Transcripts ترحل إلى مكان في السيتوبلازم منشطة Activated وتكون بذلك جاهزة للترجمة المتأخرة.

(٧,٢,٥) الترجمة المتأخرة Late translation

تبدأ المنسوخات المتأخرة في الترجمة إلى البروتينات النوعية. فينتج كل ح ن ر - الرسول أحادي الجين Monocistronic نوعًا واحدًا من البروتين على حين يترجم ح ن ر - الرسول عديد الجينات Polycistronic إلى العديد من البروتينات. ففيروس شلل الأطفال يخلق عديدات ببتيد مناظرة لـ ح ن ر - الرسول عديد الجينات، ثم يلي ذلك انشطار ما بعد الترجمة Post - translational cleavage، والذي يعطي المنتجات النهائية للموروثات. ومعروف أن من بين عديدات الببتيد قد يحدث لها تحورات Modifications؛ والتي تتضمن انشطارات ضئيلة أو تحورات كيميائية مثل التسكير Glycosylation والفسفرة Phosphorylation التركيبية. وتعد البروتينات المتأخرة أساسًا بروتينات تركيبية والتي منها يتكون غطاء الفيروس، وتشارك في تكوين الغلاف أو في الأرضية Matrix، وكذلك في إنزيمات الفيريون التي توجد بداخله. أو أن تكون عبارة عن إنزيمات غير تركيبية، كتلك المستخدمة في تشكيل Morphogenesis الفيروس، وتؤدي وظيفتها الإنزيمية ولا تدخل في تركيب الفيروس أي أنها بروتينات تنظيمية Regulatory proteins.

(٧,٣) طور التجمع والتشكيل Stage of assembly & morphogenesi:

يشير التجميع والتشكيل إلى نضج Maturation الفيروس ووضع مكوناته كلها معًا لتكوين دقيقة فيروسية كاملة ناضجة. وإن أبسط طريقة لكي يبني الفيروس نفسه من مكوناته هي عملية التجميع الذاتي Self assembly. وكثير من فيروسات النبات، بما فيها الفيروسات ذات التماثل الحلزوني مثل فيروس تبرقش التبغ (TMV) والفيروسات الإيكوزاهيدرالية التماثل مثل فيروس نخر التبغ (TNV) تتجمع بهذه الطريقة.ويمكن تجميع مكونات هذه الفيروسات معمليًا في أنبوبة الاختبار (*in vitro*) ذلك بتحضين خليط من بروتين غطاء الفيروس و ح ن ر عند الشروط المضبوطة من

الأس الهيدروجيني فتتكون الكابسوميرات Capsomeres النوعية نتيجة تفاعل تحت وحدات البروتين (أي تفاعل بروتين - بروتين- protein interactions Protein) وبالمثل، أيضًا، يتكون الغطاء Capsid، يتبع ذلك تفاعلات البروتين - الحامض النووي Protein - nucleic acid interactions والتي يعقبها تغليف (لف) Packaging الحامض النووي بداخل الغطاء. ويحدث تجميع الفيروس إما في السيتوبلازم وإما في النواة أو في العضيات السيتوبلازمية أو المثانات Vesicles. وتكتسب كل الفيروسات المغلفة Enveloped أغلفتها، إما من أغشية النواة وإما من الأغشية السيتوبلازمية مع تضمين Incorporation أشواك Spikes (Peplomes) الفيروس في الغلاف الملفوف. ويحدث أثناء عملية التجميع تفاعلات تسكير Glycosylation (إضافة السكر) لجزيئات البروتين، ويتم ذلك بتضمين جزيئات معينة من الكربوهيدرات في شوكة البروتين. ويمثل الشكل رقم (٣٦) تجميع لاقم البكتيريا T4 الجينات والمنتجات الجينية اللازمة لتخليق أجزاء لاقم البكتيريا T4 وخطوات تجميعها والبروتينات التنظيمية التي تقوم بعملية التجميع. كما يبين الشكل رقم (٣٧) ملخصًا لدورة حياة أنواع مختلفة من الفيروسات.

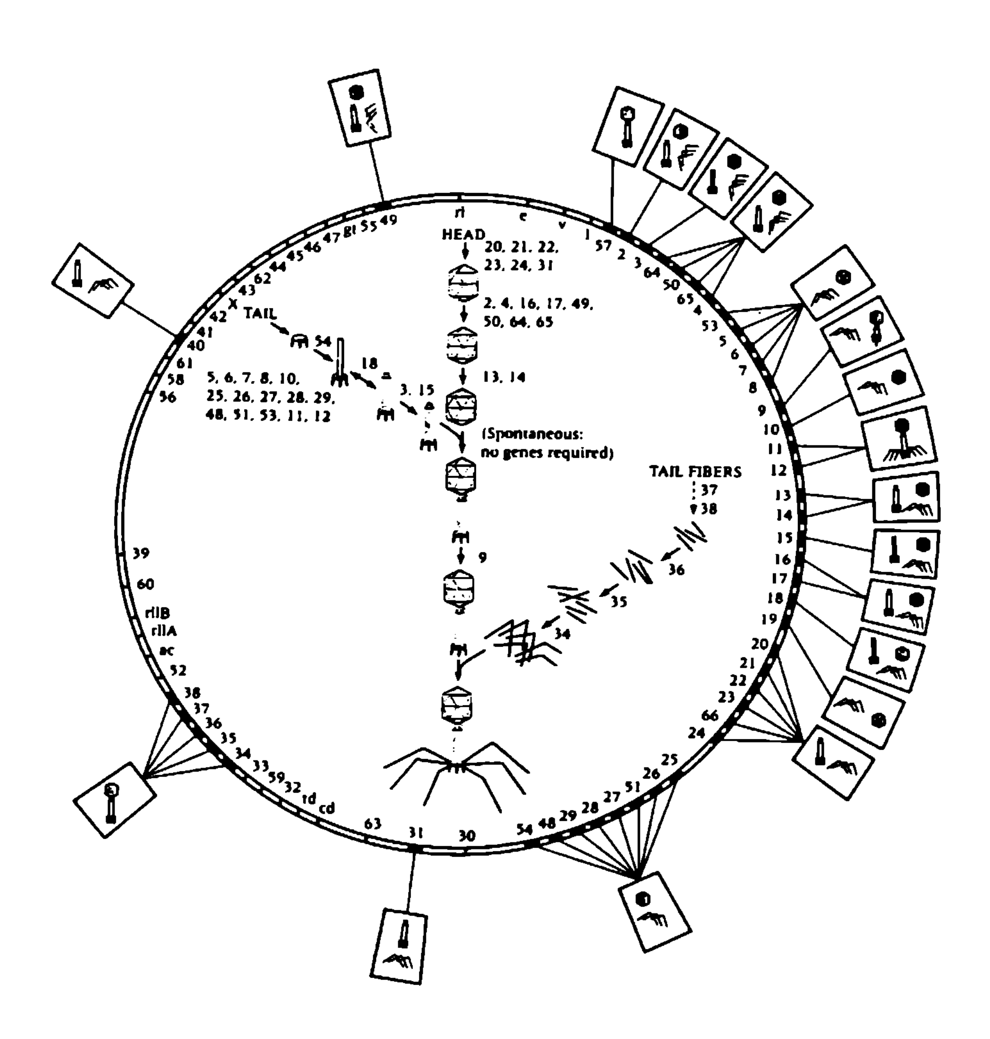
(٧,٤) طور التحرر Stage of release = getting out

يكون بمقدور الفيروسات مكتملة التجميع أن تخرج أو تحرر من الخلايا المصابة بآليات مختلفة كما يلي:

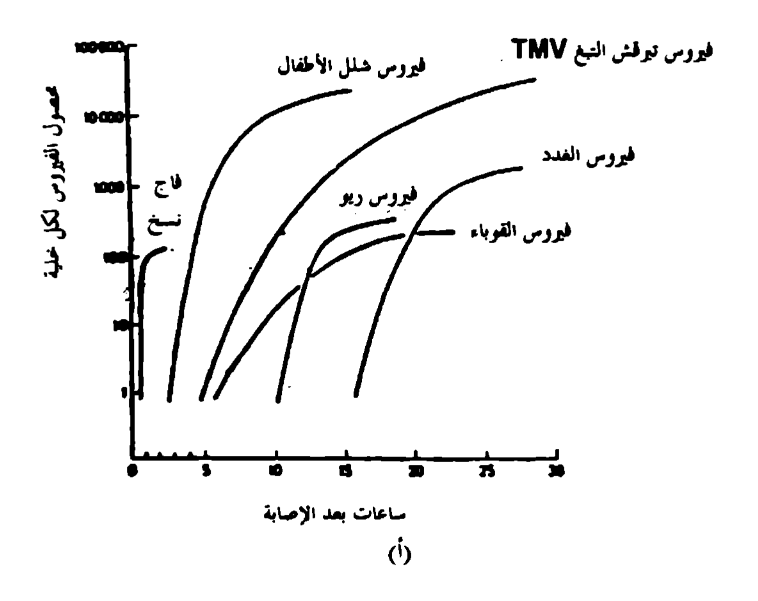
(٧,٤,١) موت الخلايا المصابة أو تحللها Death or lysis of infected cells

يقتل العديد من فيروسات الحيوان والإنسان الخلايا التي تصيبها، كما يسبب العديد من لاقمات البكتيريا تحللاً لخلايا البكتيريا التي تصيبها. ويصاحب هذه الظاهرة استنزاف كامل لموارد الخلية و / أو العطب بالإنزيمات المحللة (ليسوزيمات = Lysozymes)

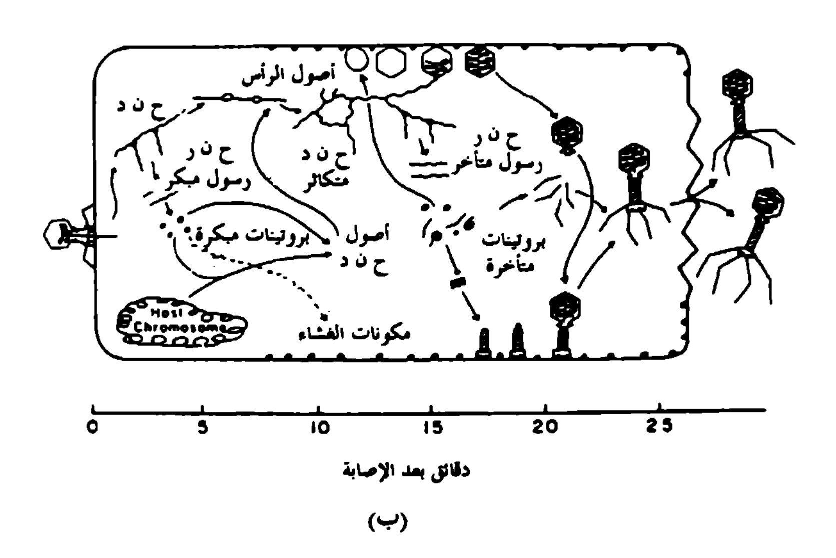
التي تفرزها أجسام الهدم الليسوسومات Lysosomes فتسبب هضم كامل للخلية. كما أن العديد من فيروسات النبات يمكن أن تسبب، أيضًا، موتًا ونخرًا Necrosis للخلايا. ويبين الشكل رقم (٣٧) تحرر لاقم البكتيريا وكذلك ملخصًا لدورة حياة لاقم البكتيريا - T4.



الشكل رقم (٣٦). تجميع فاج (اللاقم) ت ٤.



(أ)



(ب)

الشكل رقم (٣٧). (أ) ملخص دورة حياة الفيروسات.

(ب) ملخص دورة حياة لاقم البكتيريا — ت٤ .

(٧,٤,٢) خلال الروابط البلازمية لخلايا النبات والوصلات الغشائية بين خلايا الحيوان

Through plasmodesmata for plant cells & membrane junctions between animal cells

ويعني مثل هذا التحرر أساسًا بنقل Transportation الفيريونات من الخلايا المصابة إلى الخلايا المجاورة. ولا يصاحب هذه العملية ضرر كبير. وينتشر الفيروس بهذه الطريقة في كل أنحاء النبات أو جسم الإنسان أو الحيوان. ففي الفيروسات القوبائية، يتم انتقال الفيرونات من خلية إلى أخرى عبر هذه الوصلات وبذا تتخفى عن خلايا الجهاز المناعي، ويمكنها أن تظل في حالة كامنة لفترة طويلة.

(٧,٤,٣) بالتبرعم By budding

إن العديد من الفيروسات المغلفة والتي تكتسب أغلفتها من الغشاء البلازمي تخرج من الخلية المصابة بآلية التبرعم، إذ يحدث ارتفاع Elevation في الغشاء البلازمي فوق البروتين النووي Nucleoprotein المجتمع، ويزيادة التبرعم وتغليفه Wrapping الفيريون، فإن الأخير ينقطع من الغشاء البلازمي محوطًا تمامًا بالغلاف الذي تستمد دهونه من غشاء الخلية البلازمي، بينما تكون البروتينات من الفيروس. وعادة، لا تسبب الفيروسات التي تتبرعم موتًا لخلاياها فيمتلك فيروس الإنفلونزا أشواك نيورامينيديز Neuraminidase التي قد تساعد في خروج الفيريون وذلك بهضم حامض نيوراميك Neuramic acid أحد مكونات الغشاء البلازمي.

وإنه من المستحيل الكشف عن الفيروسات المعدية Infectious داخل الخلية المصابة قبل أن يكتمل تجميعها تمامًا. وتسمى الفترة مابين دخول الفيريونات المعدية والكشف عن نسلها Progeny بفترة الكمون Latent أو الخسوف Eclipse. فأثناء فترة الخسوف، يدخل المورث الفيروسي دورات من التكاثر، بناء عليه، فإنه يكشف، عادة، عن الفيريونات المعدية عقب تجميعها الكامل ونضجها. كما يمكن عمل حصر للفيروسات المتحررة والفيريونات المقيدة داخل الخلية، عن طريق تكسير الأخيرة أو هضم الجدار أو الغشاء الخلوي معمليًا.

ومن الجدير بالذكر أن كل الفيروسات البكتيرية والحيوانية التي تصيب النبات أو تصيب الحشرات أو الإنسان تمر بهذه السلسلة من الخطوات اللازمة لإحداث الإصابة والتكاثر فيما يسمى دورة الفيروس Virus cycle.

وعند عمل تجارب لقياس منحنيات نمو الخطوة الواحدة One – step growth curve انظر الشكل رقم (٣٧ أ) في المزارع الخلوية Cell cultures المصابة بالفيروسات كل على حدة، يمكن أخذ عينات منها على فترات ثم معايرتها Assayed لحساب ناتج الخلفة الفيروسية المعدية. ويتضح أن لاقم البكتيريا T4 يكمل دورته في نحو ٢٠ دقيقة، ويصل إلى هضبة Plateau النمو كما يلاحظ أنه يعطي خلفة ١٠٠ فيريون لكل خلية على حين أن فيروس شلل الأطفال Polio يكون قد أنتج فيريونات خلال الساعات الخمس الأولى بعد الإصابة لكن يصل أقصى تكاثر له بعد نحو ١٥ساعة معطيًا أكثر من ١٠,٠٠٠ فيريون لكل خلية مصابة. وفي فيروس تبرقش التبغ، نجد أنه يبدأ في التكاثر عقب ٤ – ٥ ساعات، ويصل إلى نهاية التكاثر بعد نحو ٢٨ ساعة معطيًا أكثر من ١٠,٠٠٠ فيروس للخلية. وفي فيروس القوباء Herpes، يبدأ التكاثر بعد ٦ ساعات، ويصل أقصاه بعد ٢٤ ساعة ليعطي خلفة نحو ١٠٠ فيريون للخلية. وفي فيروس ريو Reo virus، يبدأ التكاثر بعد ١٠ساعات ويصل أقصاه بعد ١٨ساعة معطيًا ناتجًا أكثر من ١٠٠دقيقة للخلية. وفي فيروس الغدد (الأدنو) يبدأ التكاثر بعد ١٦ساعة، ويصل أقصاه بعد ٢٤ ساعة معطيًا ناتجًا نحو ١٠٠٠فيريون للخلية. ولا علاقة مباشرة بين الوقت الذي يتكاثر فيه الفيروس وبداية ظهور أعراض المرض.

الفصل الثامن

تأثير العوامل الفيزيائية والكيميائية على الفيروسات

The Effects of Physical and Chemical Agents on viruses

إن معاملة الفيروسات بكيميائيات معينة أو تعرضها إلى بعض العوامل الفيزيائية يمكن أن ينتج عنها تبديلات في النشاطات الأحيائية لمثل هذه الفيروسات.

(٨,١) تثبيط الفيروسات Inactivation of viruses

١ - تعتمد قدرة الفيروس وتكاثره كلية على الحامض النووي والبروتين (أو البروتينات) الوظيفي أي الذي يؤدي وظيفته. وينشأ تثبيط الفيروس أساسًا من :

(أ) تغيرات في الحامض النووي تجعله يفقد وظيفته جزئيًّا أو كليًّا، وخاصة فيما يتعلق بالتكاثر Replication أو النسخ Transcription أو الترجمة Translation أو :

(ب) بوساطة تبديل بروتين الغطاء أو ألياف لاقم البكتيريا أو إنزيم بلمرة ح ن ر RNA polymerase في فيروس الجدري، على سبيل المثال.

٢ - قد تؤدي المعاملة المعتدلة للفيروسات بالمواد الكيميائية والعوامل الفيزيائية إلى تغيرات غير مثبطة وراثية في الحامض النووي: مثل الطفرات Mutations، على حين تؤدي المعاملة القاسية إلى تثبيط الفيروس.

٣ - تثبيط الفيروس يعني إزالة قدرته على إحداث الإصابة، دون أن يؤثر على التفاعلية المصلية الأنتيجينية في كثير من الأحيان. وقد استخدمت هذه الميزة في إنتاج اللقاح Vaccine.

٤ - يمكن أن تستحث الدقائق الفيروسية المثبطة على: إنتاج الإنترفيرون والاندماج الخلوي وإنتاج الإنزيمات والتحول السرطاني للخلايا بوساطة الفيروسات المسببة للسرطان Oncongenic viruses. وهذه الخواص صفات لبروتينات الغطاء و/أو الغلاف.

(٨,٢) تأثير الحرارة The effect of heat

١ - تؤثر درجة الحرارة على قدرة الإصابة لمعظم الفيروسات، كما تحفظ الفيروسات لفترات زمنية مختلفة عند درجات الحرارة المنخفضة (الثلج الجاف و - ٢٠° م - ٧٠° م، وفي النيتروجين السائل - ١٩٦° م).

٢ - تحطم درجات الحرارة المرتفعة قابلية العدوى Infectivity خاصة بالنسبة للفيروسات المغلفة، وهذا يفسر لماذا يجب أن تبقى الفيروسات في حمام من الثلج أثناء التجارب المعملية، ولماذا، أيضًا، يجب حفظ العينات الإكلينيكية أثناء نقلها أو شحنها في الثلج، أو مبردة.

٣ - فيروسات مثل الإنفلونزا والحصبة والغدة النكفية ونيوكاسل، وكذلك فيروسات ح ن ر التي تسبب أوراما RNA tumour viruses تكون حساسة جدًا للحرارة. إذ إن نصف عمر الحياة بالنسبة لقدرتها على إحداث العدوى هو ساعة واحدة عند درجة ٣٧° م.

٤ - يعد فيروس تبرقش التبغ TMV غير حساس أبدًا للحرارة. إذ إن تخزين عصير النبات المحتوي على TMV عند ٢٠ - ٢٥° م يمكن أن يحافظ على القدرة على العدوى مدة ٥٠ سنة، كما أنه يمكن أن يتحمل درجات الحرارة عند ٨٠ - ٩٠° م مدة ١٠ دقائق مع فقد قليل من المقدرة على الإصابة. كذلك يُعدُّ فيروس الالتهاب الكبدي ب وفيروس HIV المسبب للأيدز من الفيروسات التي تتحمل درجة حرارة مرتفعة حتى إن الماء المغلي لا يعقم الإبر أو المحاقن أو الأدوات الملوثة بهذين الفيروسين، وكذلك فيروس الالتهاب الكبدي - ج.

٥ - يتأثر، غالبًا، البروتين الفيروسي ويخرج عن طبيعته Denatured بين درجات ٢٥ - ٧٠° م، وفوق ٧٠° م، تتحطم البروتينات والحموض النووية تحطيمًا غير عكسي Irreversibly، وذلك بالنسبة لغالبية كبيرة من الفيروسات. ومع ذلك، فإن الفيروسات المحتوية على دهون تتحلل عند درجات حرارة معتدلة.

٦ - تستحث درجة الحرارة العالية تغيرات في تشكل Configuration البروتينات الفيروسية السطحية والتي تشمل البروتينات ا لسكرية Glycoproteins والبروتينات الدهنية Lipoproteins والتي ينتج عنها:

(أ) منع الاتصال النوعي للفيريونات بمواقع استقبال الخلية.

(ب) تثبيط الإنزيمات المرتبطة بالفيروس والتي يحتاجها الفيروس في التكاثر.

(جـ) تمنع إزالة بروتين الغطاء (التقشير Uncoating) وتحرر الحامض النووي الفيروسي.

(٨,٣) تأثير الإشعاع The effect of radiation

تنقسم الإشعاعات الكهرومغناطيسية Electromagnetic إما إلى إشعاعات مؤينة Ionizing أو غير مؤينة Non-ionizing وتعد أشعة جاما Gamma والأشعة السينية X-rays أشعة مؤينة، على حين أن الأشعة فوق البنفسجية (UV)Ultraviolet غير مؤينة. وتعطي الإشعاعات المؤينة طاقة أكثر من الأشعة غير المؤينة، ومع ذلك، فإن للأشعة فوق البنفسجية تأثيرًا أكثر من الأشعة السينية، على سبيل المثال. كما أن الأشعة المؤينة قد تثبط، أيضًا، الفيريونات من خلال إنتاج H^+ أو OH^- أو H_2O_2 حرة في الوسط. أما الأشعة السينية فإنها تمزق الروابط التساهمية Covalent bonds للبروتين الفيروسي وللحامض النووي مزدوج الخيط، على حين تسبب كسورا قاسية في خيوط الحامض النووي مفرد الخيط.

ولا تكسر الأشعة فوق البنفسجية سلاسل عديد النيوكليوتيدات، وبدلاً من ذلك، عند الجرعات المعتدلة، فإنها قد تحدث تأثيرًا مثبطًا للفيروس، ويرجع ذلك إلى:

(ا) الربط التساهمي Covalent bonding بين القواعد المتجاورة مثل ثنائي ثايمين ثايمين: Thymine: thymine dimer في جزيئي ح ن د أو ثنائي يوراسيل: يوراسيل :Uracil uracil dimer في جزيئي ح ن ر.

(ب) تميؤ Hydration الرابطة المزدوجة C5 - C6 في البريميدينات Pyrimidines لتكون مشتقات ٥ – هيدروكسي - ٦ - هيدروكسي.

(جـ) الارتباط التقاطعي Cross linking للبريميدينات بين السلاسل المكملة للحموض النووية مزدوجة الخيوط.

كما أن إنزيمات معاودة التنشيط في الضوء Photoreactivating enzymes أو إنزيمات معاودة التنشيط في الظلام Dark reactivating enzymes يمكن أن تكون مسئولة عن آليات الإصلاح Repair mechanisms للعطب الناتج عن الأشعة فوق البنفسجية.

ومن الجدير بالذكر أن الإشعاعات الصادرة عن الكوبالت الثقيل يمكن أن تقضي قضاءً غير عكسي على كل الميكروبات بما فيها الفيروسات التي تستخدم في تعقيم كثير من المواد وخيوط الجراحة وغيرها.

(٨,٤) تأثير الكيميائيات The effect of chemicals

تشتمل المواد الكيميائية التي تثبط الفيروسات على:

الإنزيمات، والمواد التي تخرج البروتين عن طبيعته Protein denaturants والعوامل المؤكسدة Oxidizing agents والحموض والقواعد والفورمالدهيد وحامض النيتروز.

(٨,٤,١) الإنزيمات Enzymes

١ - تثبط إنزيمات الفوسفوليبيدات Phospholipases الفيروسات المغلفة عن طريق هضم فوسفوليبيد الغلاف، وتسبب فوضى في تنظيم التركيب المطلوب لاتصال الفيروس واختراقه.

٢ - تثبط الإنزيمات محللة البروتين Proteases، أيضًا، الفيروسات المغلفة عن طريق إزالة أشواك البروتين السكري.

٣ - الفيروسات غير المغلفة أكثر مقاومة للإنزيمات محللة البروتين، إذ أن فيروس شلل الأطفال Polio virus يمر دون أي عطب من خلال حامض HCl والإنزيمات محللة البروتين. كما أن فيروس كوكساكي - أ Coxsackie A وفيروس تبرقش التبغ TMV وفيروس البطاطس إكس Potato virus x لا تفقد قدرتها على إحداث الإصابة عندما تعامل بالإنزيمات محللة البروتين على الرغم من الهضم الجزئي لبروتيناتها.

٤ - إن الهضم الإنزيمي للبروتين الفيروسي يعرض الحامض النووي الفيروسي للإنزيمات النووية Nucleases الخلوية والتي تثبط هذه الفيروسات.

(٨,٤,٢) المواد التي تخرج البروتين عن طبيعته Protein denaturants

من المواد التي تخرج البروتين عن طبيعته الفينول Phenol ودوديسيل كبريتات الصوديوم Sodium dodecyl sulfate (SDS) وتوين -٢٠ (Tween-20) وتوين - ٨٠ (Tween-80) والتي تقشر Strip off البروتينات الفيروسية. وهذه المنظفات Detergents تستخدم عادة لعزل الحموض النووية الفيروسية النقية.

(٨,٤,٣) حامض النيتروز Nitrous acid

يثبط حامض النيتروز الفيروسات من خلال إزالته لمجموعات الأمين Deamination من كل من البروتينات والحموض الأمينية الفيروسية.

$$R\text{-}NH_2+HNO_2 \rightarrow R\text{-}OH+N_2+H_2O$$

(٨,٤,٤) الفورمالدهيد Formaldehyde

يثبط الفورمالدهيد الفيروسات، وهي ظاهرة تستخدم في إنتاج لقاحات Vaccines تحتوي على فيروسات نشيطة من حيث القدرة الأنتيجينية. ويلاحظ أنه

لايجب أن يقل تركيز الفورمالدهيد هنا عن قدر محدد، على حسب طبيعة الفيروس، فإذا قلت عن ذلك، فإن هذا يكون مصدر خطر للذين يأخذون اللقاح، إذ تبقى فيه فيروسات حية تسبب المرض، وقد حدثت حالات عديدة سواء بالنسبة لفيروسات الإنسان أو الحيوان وأدت إلى حدوث أوبئة غير طبيعية.

(٨,٤,٥) هيدروكسيل أمين Hydroxylamine

يثبط هيدروكسيل أمين NH_2 OH العديد من فيروسات النبات والحيوان والإنسان والبكتيريا لتفاعله مع الحامض النووي معطيًا يوريدين ريبو سيل يوريا ويتفاعل، فقط، مع البريميدينات اعتمادًا على طبيعة الأخيرة وعلى الأس الهيدروجيني.

(٨,٤,٦) عوامل الألكيل Alkylating agents

تثبط عوامل الألكيل الفيروسات عن طريق إدخال مجموعة ألكيل Alkyl - group في البروتينات والحموض النووية. ومن بين هذه العوامل غاز الخردل bis-β-chloroethyl sulfide) Mustard gas)، وخلات اليود Iodoacetate، وإيثيلين الأوكسيد Ethylene oxide، وبروبيلين الأوكسيد Proplyene oxide، وكبريتات ثنائي الميثيل Dimethyl sulfate، وإيثيل ميثان السلفونات Ethyl methane sulfonate.

(٨,٤,٧) مثبطات الفيروسات في الخلية *In vivo* inactivators of viruses

(٨,٤,٧,١) مناظرات القواعد Base Analogues

إن دخول مناظرات القواعد في مكان القواعد النتروجينية للحامض النووي الفيروسي يؤدي إلى تثبيطه. ومثال ذلك خامس بروميد اليوراسيل 5-bromo uracil وخامس فلوروبوراسيل، إذ يؤثران على فيروسات تبرقش التبغ وجدري الأرانب والبوليوما والقوباء والسعار الكاذب والكوكساكي. ويرجع ذلك إلى أن إضافة هذه

القواعد المناظرة تؤدي إلى تكوين بروتين خطأ مما يجعله غير وظيفي. كذلك تثبط المناظرات إنزيمات لازمة لتكاثر الفيروس أو أنها تحدث بالفيروس طفرات.

(٨,٤,٧,٢) الفوسفور المشع Radioactive phosphorus

يستخدم الفوسفور المشع P^{32} كأمر عادي لقياس كمية الحامض النووي الذي يصنع داخل الخلية على اعتبار أنه أحد مكونات الحامض النووي. إلا أن استخدامه بنوعية نشاط عالية High specific activity يؤدي من كثرته إلى تحلل Decay الفوسفور فتنطلق دقائق بيتا الوفيرة مما يؤدي إلى تمزق خيط الحامض النووي عند موضع التحلل. وهذا ما يسمى انتحار الفوسفور المشع P^{32}– Suicide.

(٨,٤,٨) الأجسام المضادة والإنترفيرون Antibodies & interferon

تصنع الأجسام المضادة إما استجابة للمرض الطبيعي، وإما نتيجة للتطعيم Vaccination، إذ هذه الأجسام المضادة (الجلوبيولينات المناعية) النوعية تعمل على معادلة نشاط الفيروس الذي إستثار تصنيعها وتثبيطه. كما تقوم الجلوبيولينات المناعية الجاهزة بحماية الشخص عند تناولها جاهزة في صورة حقن وهو ما يسمى بالمناعة السالبة.

أما الإنترفيرونات، فإنها بروتينات سكرية يصنعها الجسم ضد أي فيروس ويمكنها أن تصد وتثبط أي فيروس داخل الكائن الحي شريطة أن يكون الإنترفيرون هذا إما مصنعًا داخل جسم الكائن استجابةً لغزو الفيروس، وإما أنه يعطى في صورة حقن. ويختلف الإنترفيرون عن الجسم المضاد في أن الأول تخصصيًّا بالنسبة للكائن الذي أنتجه ولكنه يعمل على كل الفيروسات على حين يكون الجسم المضاد تخصصيًا ضد فيروس معين ولكنه يعمل على كل الكائنات إذا أعطي لها.

الفصل التاسع

تأثير الإصابة الفيروسية على خلية العائل

The Effect of Virus Infection on The Host Cell

لا شك أن الفيروسات كلها تؤثر أول ما تؤثر على الخلية التي تحدث فيها إصابة والتي تنتقل منها إلى خلايا أخرى من النوع نفسه أو من أنواع أخرى في النسيج نفسه أو في أنسجة أخرى. وربما تشمل كل خلايا النوع أو غيرها إذا كانت الإصابة جهازية Systemic عامة Generalized. وتأثير الفيروس على الخلايا العائلة التي يصيبها أصعب بكثير في دراسته على مستوى جزيئي Molecular من دراسة عملية تكاثر Multiplication الفيروس. إذ إن دراسة المستوى الجزيئي لعملية التكاثر لا تحتاج، فقط، إلا إلى القدرة على التعرف وقياس الجزيئات الكبيرة Macromolecules التي يخصصها الفيروس Virus-specified. إلا أن دراسة تأثير الفيروس على خلايا العائل تحتاج معلومات مفصلة عن وظائف الخلية العائلة العادية وكيفية تشغيلها. ولا شك أن الدراسات التي تركزت على تأثير الفيروس على الخلية العائلة قد وسعت معرفتنا بوظائف الخلايا غير المصابة.

وما يقال عن أن الفيروسات المحللة Lytic القاتلة للخلايا التي تصيبها إنما تؤدي إلى ذلك، لأن الفيروس يكون في حاجة ملحة إلى المزيد من أصول تخليق البروتين والحامض النووي، ومن ثم، فإن التنافس بين مطالب الفيروس والخلية يقصر من عمر الأصول البانية ومن ثم، يمنع الخلية العائلة أن تقوم بتصنيع الجزيئات الكبيرة اللازمة لها وبنائها.

ولا يعد ذلك صحيحًا؛ لأن كمية المادة الفيروسية التي يمكن أن تخلق داخل الخلية المصابة لا يمكن أن تتجاوز بأي حال ١٠٪ من المادة الخلوية الكلية.

والحقيقة الثانية التي تستخلص من هذه المعطيات هي استبعاد أن يقوم الفيروس بتحطيم مادة الخلية العائلة وتكسيرها من أجل إمداده بالأصول اللازمة لتخليق الجزيئات الكبيرة الفيروسية.

وحيث إن تخليق البروتين والحامض النووي كليهما يعتمد، بدرجة مطلقة، على مصدر للطاقة، فإنه من المتوقع أن أكبر ناتج ومحصول فيروسي لا بد أن يحدث في الخلايا التي يحدث فيها أقل ضرر لمدة أطول من الوقت.

ولكن بعض الفيروسات تنجح بصورة مدهشة وبسرعة في أن تستولي Take over على جهاز التخليق في الخلية وتتكاثر بكثافة Extensively في فترة وجيزة من الوقت والتي يمكن فيها استغلال وظائف هذ الجهاز التخليقي.

(٩,١) آثار الفيروس على الخلايا المصابة

(٩,١,١) التأثيرات المرضية على الخلية Cytopathic effects

يعد التأثير المرضي على الخلية Cytopathic effect (CPE) أكثر الآثار اكتشافًا بالنسبة للفيروسات المحللة Lytic viruses، إذ يمكن ملاحظته بالعين المجردة Macroscopically، أو بالمجهر Microscopically. إذ يرجع تكوين الروائق Plaques إلى التأثير المرضي على الخلايا، فالفيروسات تقتل الخلايا التي تتكاثر فيها وما الروائق إلا هذه المساحات من الخلايا المقتولة.

كما أن استخدام المجهر الضوئي والمجهر الإلكتروني يُمكّن من رؤية التغيرات التي تحدث في العديد من عضيات Organelles الخلية منذ أول لحظات الإصابة. وفي أغلب الأحيان، تتأثر نواة الخلية المصابة أولاً فيحدث تقلص Pyknosis وتغيير في تركيب النواة، وتحفيف Margination للكروماتين.

أما التغيرات التي تتم في الغشاء الخلوي فتلي، في الغالب، التغير الذي يتم في النواة إذ يفقد الغشاء تدريجيًا قدرته على الالتصاق Adherence بالسطوح الملامسة ومن ثم، تستدير Round up الخلية، وفي كثير من الأحيان، تميل بشدة إلى أن تندمج Fuse وتنصهر مع بعضها بعضًا.

ويلي ذلك غالبًا، ظهور بؤر محددة منتشرة Distinct spreading foci في السيتوبلازم أو النواة، تتكون من مادة ليفية Fibrillar. وهذا ما يسمى عادة بالأجسام المحتواة Inclusion bodies والتي وصفها علماء الخلية أو علماء الأمراض وهذه تمثل أماكن التخليق الحيوي Boisynthesis للفيروس وكذلك تشكيله Mophogenesis في معظم الأحيان.

وأخيرًا، فعند الوقت الذي يصل فيه تخليق البروتينات الفيروسية إلى أقصاه، تصبح تغيرات تقرحية Necrotic وهادمة Degradative بشدة أكثر وضوحًا. ويمكن أن تعزى هذه التغيرات إلى ثلاثة أسباب على الأقل.

أولاً: إنه بحلول هذا الوقت - يكون قد تم التداخل مع تخليق الجزيئات الكبيرة للخلية، فمن المعروف، أن الجزيئات الكبيرة للخلية تتحول بمدى أعظم أو أقل، بمعنى أنها تكون دائمة التكسير Broken down ويعاد تخليقها بآلية تعمل بغض النظر عن أن الخلايا تنمو أو لا تنمو. إن تثبيط إعادة التخليق مع استمرار التكسير ممكن أن يؤدي بوضوح إلى فشل تركيبي ووظيفي.

ثانيًا: إن وظائف الغشاء البلازمي تتدهور Decline وربما يعزى ذلك إلى توقف تخليق البروتين والدهون وإلى أن تكتلات Patches من بروتينات غشاء العائل يحل محلها بروتينات مشفرة Coded بالفيروس. وإن هذا التغير يؤدي بالتأكيد إلى زيادة في النفاذية Permeability بسرعة عقب الإصابة وقبل أن يفقد الغشاء البلازمي وظائفه بفترة كافية والتي من شأنها الفشل في الحفاظ على البيئة الأيونية المضبوطة داخل الخلية، وأيضًا، نقص نقل المغذيات Nutrients الأساسية إلى الخلية والتخلص من نواتج الفضلات.

ثالثًا: إن الليسوزومات Lysosomes المبطنة للغشاء السيتوبلازمي تبدأ في الفشل، ونتيجة للإنزيمات المحللة المائية Hydrolytic التي تحتويها، فإنها تتسرب Leak out إلى السيتوبلازم، وهناك تسرع من التأثيرات الناشئة عن الآليات الأخرى.

وتكون النتيجة النهائية لتقرح Necrosis (موت) الخلايا هو تحرير Release الفيروسات خاصة تلك التي لا تتبرعم من الغشاء. وعمومًا، فكلما كان الفيروس أكثر

صغرًا في الحجم كان أسرع في التحرر. أما الفيروسات الكبيرة مثل فيروس الجدري، فإنها غالبًا ما تبقى محجوزة مع أشباح Ghosts الخلايا المصابة لفترات طويلة من الوقت.

أما في الجسم، فقد يختلف الوضع؛ فالخلايا المحطمة أو المعطوبة قد يتم بلعمتها Phagocytosed، ومن ثم، فإنها قد تضيف آلية أخرى لانتشار Dissemination خلفة الفيروس Viral progeny.

وعلى الرغم من المعرفة الثابتة لأسباب التقرح والتغيرات الهادمة التي تحدث أثناء الأطوار الأخيرة من دورة تكاثر الفيروس، إلا أنه ليس من الواضح لماذا تحدث بعض الفيروسات تأثيرات مرضية خلوية بسرعة بعد الإصابة. فبعض هذه الفيروسات قد يعزى فيها التأثير المرضي الخلوي إلى بروتينات الفيروسات المبكرة ولبعضها الآخر، يبدو أن مثل هذه التأثيرات تسببها مكونات الدقائق الفيروسية الغازية. وإنه من المهم في هذا الشأن معرفة أن ألياف Fibres فيروس أدنو Adenovirus تكون سامة للخلية Cytotoxic وأن عشر دقائق من فيروس فاكسينيا المثبطة بالحرارة (والتي لا يمكن أن تعبر عن أي وظيفة وراثية) يمكن أن تقتل الخلايا. وعلى الجانب الآخر، فمن المعروف أن الدقائق الفارغة لفيروس ريو Reovirus، أي التي لا تحتوي على ح ن ر RNA، لا تسبب أي تأثير مرضي خلوي حتى ولو كانت بأعداد ضخمة جدًا.

(٩.١,٢) تثبيط تخليق الجزيئات الكبيرة للعائل Inhibiton of macromolecular synthesis

إن استحثاث التأثيرات المرضية مبكرًا بعد الإصابة قد يعزى بدرجة وثيقة إلى ظهور تثبيط سريع بدرجة كبيرة أو قليلة للخلايا العائلة فيما يتعلق بتخليق البروتين أو ح ن د DNA أو ح ن ر RNA والتي تعد عاملاً أساسيًا مهمًا في التفاعل التحللي Lytic للفيروس والخلية.

ويثبط تخليق بروتين الخلية العائلة أولاً: ويحدث أحيانًا الخطأ في تقدير تثبيط البروتين في الخلايا المصابة، عند قياس المعدل الكلي لتخليق البروتين؛ لأنه غالبًا ما يتحول التخليق لصالح الفيروس، بينما يقل تخليق بروتين الخلية العائلة بسرعة. كما أن

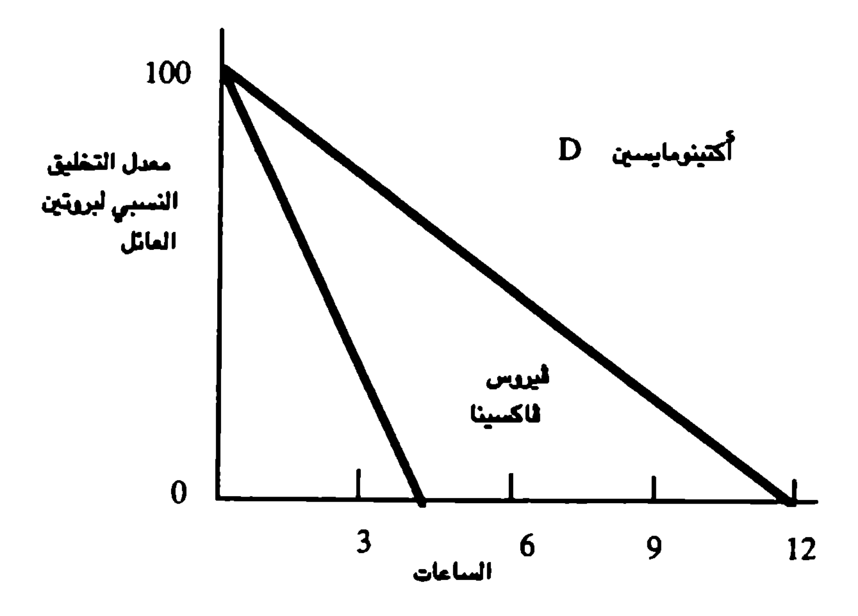
تثبيط تخليق بروتين الخلية يسبب تثبيطًا في تكاثر ح ن د DNA للخلية، والذي من المعروف أنه يعتمد على نشاط العديد من البروتينات قصيرة الأجل. يلي ذلك، سريعًا، توقف تخليق ح ن ر RNA الخلوي الذي قد لا يعزى إلى أي تأثير مباشر لإنزيمات تبلمر ح ن ر المعتمدة على ح ن د DNA-dependent RNA polymirases ولكن، بسبب التغيرات في الحالة الفيزيائية لـ ح ن د (مثل تحفف Margination الكروماتين والتغيرات التركيبية في النوية) والتي تمنعه من أن يعمل كقالب Template للنسخ Transcription وكنتيجة، ليس، فقط، لزيادة تثبيط تخليق ح ن ر - الرسول m.RNA ولكن، أيضًا، للنقص في إمداد ريبوزومات جديدة غير تلك التي يستخدمها الفيروس.

ولقد درست الأسباب المؤدية إلى تثبيط تخليق البروتين في الخلايا المصابة بالفيروس ولكنها ليست مفهومة تمامًا. فقد يكون أحد الأسباب هو النقص المستمر في تكوين ح ن ر - الرسول ولكن، مع ذلك، فإنه من الواضح أن العديد من الإصابات الفيروسية يتناقص معدل تخليق بروتين العائل فيها بأسرع مما يمكن توقعه على أساس معدل تفكك Decay ح ن ر - الرسول (mRNA) في الخلايا غير المصابة. فعلى سبيل المثال، تثبط الإصابة بمعدلات تكاثرية عالية High multiplicities من الفاكسينيا تخليق بروتين العائل بنحو يزيد على ٩٠٪ خلال ساعتين (الشكل رقم ٣٨)، ولا يمكن اعتبار ذلك تأثيرًا سميًّا Toxic عامًّا على الخلية العائلة إذ إن البروتين الفيروسي يكون في ذلك الوقت قد تم تخليقه بقوة كما لا يمكن أن يعزى ذلك، أيضًا، نتيجة تحطيم ح ن ر - الرسول (mRNA) للخلية، إذ يستمر وجود هذا الـ ح ن ر بكميات غير متناقصة. لكنه ربما توجد آلية، تنشأ بعد الإصابة مباشرة، تعمل بنشاط على منع ترجمة Translation ح ن ر - الرسول الخلوي والذي يكون موجودًا بالسيتوبلازم وقت الإصابة.

وإنه من المحتمل أن توجد، إضافة إلى ذلك، آليات أخرى عديدة معتمدة في ذلك على طبيعة الفيروس. إذ إن جزيئات ح ن ر - الرسول للفيروس Viral messenger mRNA تكون، بصفة عامة، مثبطات فعالة لتخليق البروتين عن ح ن ر - الرسول الخلوي. وتطبيقًا لذلك، فإن عمل نظم لتخليق البروتين في أنبوبة الاختبار

in vitro حيث يحتوي على خليط من ح ن ر - الرسول (mRNA) الفيروسي. لـذا فـإن التنافس Competition مع ح ن ر - الرسول الفيروسي يكون - بلا شك - سببًا رئيسيًّا في التوقف التدريجي لترجمة ح ن ر - الرسول الخلوي. ولكن مع ذلك، فلا يمكن أن يعزى إليه، فقط، هذا التثبيط السريع جدًّا.

وفي حالة بعض الفيروسات الأخرى، فإن مكونًا من الدقيقة الفيروسية الأبوية Parental يبدو أنه يسبب تثبيط تخليق البروتين الخلوي. وفي حالة بعضها الآخر، مثل فيروسات رابدو Rhabdo viruses وفيروسات الجدري، يبدو أن المثبط يكون عبارة عن ح ن ر مخلق جديد أو بروتين مترجم عنه.



الشكل رقم (٣٨). تأثير الإصابة بفيروس فاكسينيا المعامل بأكتينومايسين D على تخليق البروتين الخلوي في مزارع الخلايا الليفية (L-Fibroblasts) للفئران (عن جوكليك ١٩٨٠م).

أما الإصابة بفيروسات بيكورنا Picornaviruses ، مثل فيروس شلل الأطفال Polio ، فإنها تسبب تثبيط التعرف Recognition المعتمد على آلية وجود قلنسوة Cap عند طرف ح ن ر - الرسول اللازم للبدء Initiation في تخليق البروتين.

كما اقترح ، أيضًا ، أن الإصابة ربما تسبب حدوث دخول فيض Influx من أيونات الصوديوم إلى الخلية والتي من شأنها أن تثبط بدء ترجمة ح ن ر - الرسول للخلية العائلة ، بينما تحفز ترجمة ح ن ر - الرسول الفيروسي. وأخيرًا ، فإن بعض الفيروسات مثل بعض فيروسات القوباء (Herpes) تسبب ، بالفعل ، تحطيم ح ن ر - الرسول للخلية العائلة.

وعلى الرغم من النظرية التي تقول بأن تثبيط ح ن د DNA و ح ن ر RNA للخلية العائلة يكون ثانويًا بالنسبة لتثبيط تخليق بروتين الخلية العائلة ، فقد يكون ذلك صحيحًا لأغلب الإصابات الفيروسية ، لكنه ، مع ذلك ، توجد بعض الاستثناءات. ففي حالة فيروس التهاب الفم المثاني .V.S.V وفيروس سنديس Sindbis virus ، فإنهما يقفلان Shut off سريعًا تخليق ح ن د DNA و ح ن ر RNA على الترتيب بآليات تبدو أنها لا تتضمن تثبيط تخليق البروتين ، كما أن أحد مكونات دقيقة فيروس الجدري الأبوي قد سجلت على أنها تثبط تخليق ح ن د للخلية العائلة ، كذلك فإن جزيئات الجليكوبروتين ج G glycoprotein المعزولة من فيروس .V.S.V تثبط تخليق ح ن د الخلوي وليس تخليق البروتين.

(٩,١,٣) التغيرات في تنظيم التعبير عن الجين

Changes in the regulation of gene expression

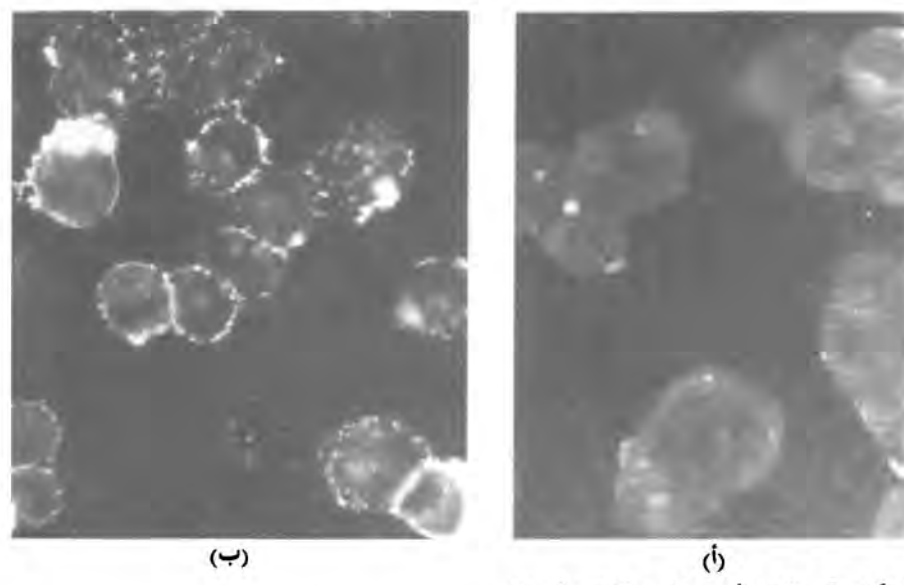
إن بإمكان بعض الإصابات الفيروسية ، أيضًا ، أن تؤثر على تنظيم التعبير عن مورث الخلية العائلة ، لذا فإن نشاط بعض إنزيمات التخليق الحيوي Biosynthesis للحامض النووي تزداد بعد الإصابة غالبًا. فالإصابة ، بفيروس بوليوما Polyoma وإس في-٤٠ (عائلة بابوفا Papovaviridae) ، على سبيل المثال ، تزيد نشاط ستة إنزيمات ، على

الأقل، وواحد من هذه الإنزيمات هو إنزيم فسفرة البيريميدين منزوع الأكسيجين Deoxypyrimidine kinase الذي يفسفر كلا من اليوريدين منزوع الأكسيجين Deoxyuridine والسيتيدين منزوع الأكسيجين Deoxycytidine. وتمتلك الخلايا شكلين لهذا الإنزيم: واحد منهما يخلق في الخلايا الساكنة Resting ويخلق الشكل الآخر في الخلايا النامية Growing. فعندما تصاب الخلايا بفيروس SV-40 أو فيروس أدنو، فإن الشكل الأخير للإنزيم هو الذي يستحث تكوينه. يضاف إلى ذلك، أن الإصابة بكل الفيروسات، تقريبًا، تؤدي إلى تخليق نوع جديد من البروتين هو الممانع أو المتداخل Interferon. مما سبق يتضح أن خطوط الأدلة هذه تقترح بأن الإصابة ربما تضايق Upset الآليات Mechanisms والتي تمنع، عادة، تخليق جزء كبير من ح ن د الخلوي، وأنه ربما توجد فترة خلال الجزء الأول من دورة الإصابة يحدث فيها أن يعبر المورث الخلوي عن نفسه في الخلية المصابة، بينما لا يحدث ذلك في الخلايا السليمة.

(٩،١،٤) ظهور محددات مولدات أضداد (محددات أنتيجينية) جديدة على سطح الخلية المصابة

Appearance of new antigenic determinants on the cell surface

سريعًا أو لاحقًا بعد الإصابة، يحدث تحور في غشاء الخلية المصابة. ويعبر عن ذلك التغير بطرق متعددة مثل كونكانافالين أ (Concanavalin A)، كما تزداد النفاذية Permeability، يضاف إلى ذلك أن محدِّدات مولدات أضداد (محددات أنتيجينية) جديدة تبدأ في الظهو على سطح الخلية. فعندما يكون الفيروس المحدث للإصابة مغلفًا، فإنه من المرجح أن تكون هذه المحددات الجديدة هي بروتينات الغلاف الفيروسي التي ضُمِّنت Incorporated في غشاء الخلية، ولكن ثمة محددات جديدة لمولدات الأضداد تظهر، أيضًا، على سطوح الخلايا المصابة بفيروسات غير مغلفة. ووجود هذه المحددات يخدم في استنفار Alert الآلية المناعية التي من شأنها وجوب استبعاد الخلايا المصابة انظر الشكل رقم (٣٩).



(ب) (أ)

الشكل رقم (٣٩). أ – خلايا هيلا غير المصابة.
ب – خلايا هيلا مصابة بفيروس فاكسينيا لمدة ٨ ساعات، ولم تثبت الخلايا وصبغت بمصل مضاد من أرنب سبق حقنه بخلايا مصابة بفيروس فاكسينيا.

(٩,١,٥) الاندماج الخلوي Cell fusion

إن العديد من الفيروسات، خاصة الفيروسات شبه المخاطية Paramyoviruses مثل فيروس سينداي Sendai، وكذلك فيروسات عائلة القوباء Herpes viruses تسبب اندماج الخلايا المصابة الواحدة في الأخرى مما ينتج عنه تكوين مدمجات خلوية Syncytia عملاقة تمثل كتلاً من السيتوبلازم محددة بغشاء خلوي واحد، والتي قد تحتوي على المئات، وأحيانًا، الآلاف من الأنوية Nuclei. ويبدو أن الاندماج تسببه تغيرات مستحثة Induced في أغشية الخلية نتيجة للتفاعل مع بعض البروتينات السكرية الموجودة في الأغلفة الفيروسية (مثل جليكوبروتين B2 في فيروس هيربيس وشوكة F في جليكوبروتين الفيروسات شبه المخاطية). لهذا فإن الاندماج الخلوي لا يحدث، فقط، بالدقائق الفيروسية الحية النشيطة ولكن، أيضًا، بالدقائق الفيروسية غير النشيطة Inactivated. علاوة على ذلك، فإن الاندماج الخلوي لا يستحث، فقط، بين خلايا

النوع نفسه المتماثلة، ولكن بين الخلايا المختلفة. وينتج عن الاندماج الخلوي إما خلية عملاقة Giant cell متباينة المجموعات الصبغية Heterokaryon (الشكل رقم ٤٠) تحتوي على العديد من الأنوية مختلفة الأنواع. وأما ما يسمى بالخلايا الهجين Hybrid التي تحتوي على أنوية الخلايا الأبوية. وعادة ما تكون الخلايا حية Viable. وتستخدم الآن على نطاق واسع في وراثة الخلايا الجسدية Somatic cell genetics التي تنتج بإدماج خليط من خلايا خطين Cell lines لتهجينها بوساطة فيروس سينداي المثبط (أو، وهذا ما يستخدم الآن، بوساطة بولي إيثيلين جليكول Poly ethylene glycol). وهذه الهجن مفيدة خاصة في تحديد المواقع الكروموسومية لجينات معينة، ويمكن الربط بين فقد أي كروموسوم عندما تفقد بعض وظائف جينية معينة. وقد أمكن في السنوات الأخيرة تخصيص وتوصيف بعض الجينات البشرية لكروموسومات معينة بنفس هذه الطريقة باستخدام خلايا هجين من الإنسان والفأر والتي تفقد كروموسومات خاصة بالإنسان. وتستخدم هجن الخلايا في مزيد من التطبيقات تشمل:

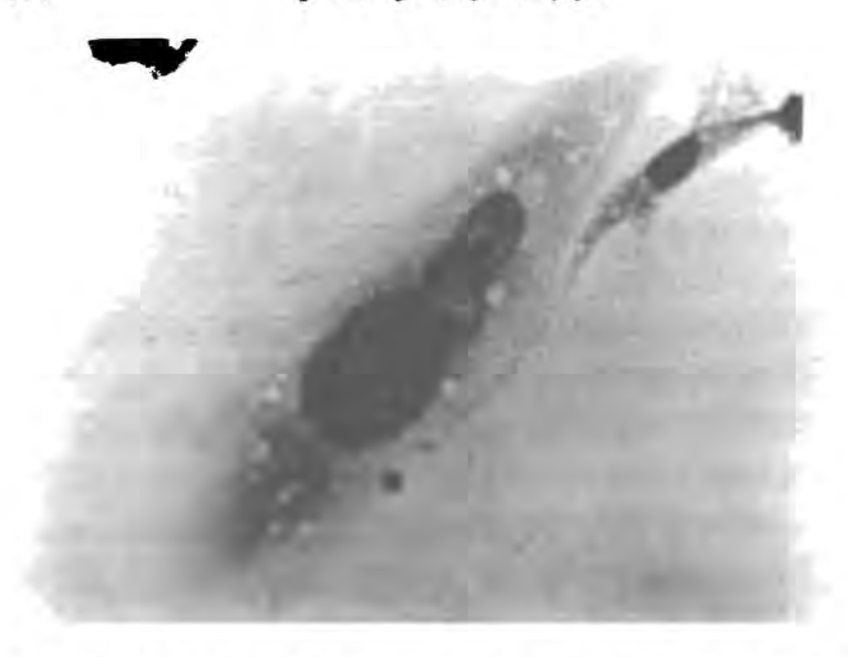
١ - تسمح هجن طفرات الخلايا بالتحليل الوراثي المكمل Complementary genetic analysis.

٢- تهجين الخلايا المتحولة Transformed يسمح بإنقاذ Rescue مورثات الفيروس السرطاني الملتحم مع مورثات الخلية العائلة.

٣ - إن هجن الخلايا يمكن أن تستخدم لتحديد ما إذا كانت الأحداث، مثل استحثاث تخليق بروتينات نوعية، تحت تحكم Control موجب أو سالب.

٤ - يمكن دراسة العوامل الوراثية التي تتحكم في القابلية للإصابة بالفيروس، وكذلك التعبير عن إحداث السرطان Tumorigenicity.

٥ - إن هذه التقنية أصبحت مهمة ومطبقة عمليًا في علم المناعة من أجل إنتاج سرطان هجيني Hybridomas والتي بها يمكن إنتاج نوع واحد خاص من الأجسام المضادة والتي يطلق عليها اسم الأجسام المضادة وحيدة النسيلة Monoclonal antibodies.



الشكل رقم (٤٠). الاندماج الخلوي المستحث بفيروس سينداي المثبط بالأشعة فوق البنفسجية وقد أدى إلى اندماج ثلاث خلايا Fibroblasts من جنين الدجاج مكونة خلية عملاقة متباينة المجموعة الصبغية، إذ تحتوي على نواتين صغيرتين لخلايا جنين الدجاج العادية ونواة كبيرة متحولة Transtformed بفيروس ساركوما راوس Rous sarcoma مكبرة × ٤٠٠ (Svoboda and Dourmashkin J. Gebvurak 4: 523, 1969).

(٦,١,٩) الإصابة المجهضة Abortive infection

إن أغلب التغيرات التي سبق وصفها تتعلق بدورة التكاثر التحليلية Lytic multiplication cycle تحت ظروف الإصابة المنتجة Productive infection أي عندما يتكاثر الفيروس بعيارية عالية High titer في خلايا سامحة Permessive أو ليست تامة السماحة Not fully permessive. وفي مثل هذه الخلايا، فإن الفيروسات لا تستطيع أن تتكاثر؛ لأن بعض الخطوات الأساسية في دورة التكاثر لا تستطيع أن تتحقق. ومن أمثلة الإصابة المجهضة خلايا هيلا HeLa المصابة بفيروس الإنفلونزا، وخلايا كلى

الكلاب المصابة بفيروس هيربيس سيمبلكس Herpes simplex وخلايا كلى الخنزير المصابة بطفرات معينة من فيروس جدري الأرانب أو خلايا القرود المصابة بفيروس أدنو البشري وكثير غير ذلك.

وتعد إصابة الخلايا السامحة في وجود عامل مضاد للفيروس Antiviral agent هي، أيضًا، إصابة مجهضة. وفي كل هذه الحالات، يبدأ المورث الفيروسي في التغيير من تلقاء نفسه. ومع ذلك، فإن التغيرات التي تحدث في هذه الخلايا قد تؤدي إلى موت الخلايا.

(٩,١,٧) الإصابة المثابرة Persistent infection

إن الإصابة الفيروسية للخلايا السامحة بالفيروسات المحللة، على سبيل القاعدة، تؤدي إلى إصابة منتجة وموت الخلية. وأحيانًا، مع ذلك، نجد عند ملاحظة المزارع الخلوية أنها تتكاثر عاديًّا أو قريبًا من ذلك، وبهذا، فإن كمية معنوية من الفيروس تتحرر. أي أن الخلايا لا تموت ولكنها تنتج، الفيروس، أيضًا، ومثل هذه الخلايا يقال عنها إن بها إصابة مثابرة. وتتكون علاقات ثابتة بين نمو الخلايا وتكاثر الفيروس والتي لا تحدث، فقط، على مستوى الخلية (*in vitro*) ولكن، أيضًا، على مستوى الكائن الحي (*in vivo*) ويحدث ذلك بطريقتين:

في الطريقة الأولى، تضُم الفيروسات التي تسبب أدنى حد من العطب للخلية كما سبق شرحه. وأحسن مثال على ذلك فيروس إس في ٥ (SV5) التابع للعائلة شبه المخاطية Paramyxoviridae، إذ يتفاعل هذا الفيروس مع العديد من الخلايا بصورة محللة Lytic قاتلة للخلايا (Cytocidal). ومع ذلك، فإنه - عندما يصيب خلايا كُلى القرود لا يسبب، على وجه الخصوص، أي عطب للخلية، ويسمح للخلايا بأن تنمو بحرية وتتكاثر. وإصابة خلايا جديدة لا تؤدي أي دور في هذا الموقف ومن ثم، فإن هذا النوع من الإصابة لا يمكن أن يشفى بإضافة أية أجسام مضادة معادلة Neutralizing antibodies.

أما الحالة الثانية فهي مختلفة تمامًا، فإن تفاعل الفيروس والخلية يكون محللاً Lytic ؛ بمعنى أن كل خلية مصابة تموت دائمًا. لكن معدل تكاثر الفيروس يكون محدودا Limited ، ومن ثم، فإن الناتج يكون عادة صغيرًا. علاوة على ذلك، فإن مختلف العوامل تقلل من احتمالية معاودة الإصابة Reinfection ، ومن ثم، فإن نسبة الخلايا المصابة بالنسبة للعدد الكلي للخلايا يظل صغيرًا وثابتًا. والعوامل التي تستحث وتحافظ على هذا النوع من الإصابة المثابرة هي ما يلي :

أولاً : يحدث هذا النوع من الإصابة بدرجة أسرع في الخلايا التي تكون، غالبًا وليس دائمًا، غير سامحة ومن ثم، فإنها تنتج، فقط، كميات صغيرة من الفيروس.

ثانيًا: أنه يحدث في حالات تكون فيها عوامل في الوسط، مثل الأجسام المضادة أو المتداخلة "إنترفيرون"، إذ تمنع تحرر الغالبية العظمى من خلفة الفيروس لتصيب خلايا جديدة.

ثالثًا: إن الكثير من سلالات الفيروسات التي تم عزلها من خلايا أو حيوانات ذات إصابة مثابرة، تكون قليلة الشراسة Virulent وأقل إمراضية للخلية وتكون للدهشة حساسة للحرارة Temperature sensitive فيما يتعلق بقدرتها على التكاثر. وقد وجد ذلك الآن بالنسبة لفيروس الحمى القلاعية FMDV وكوكساكي Coxsackie وسندبيس والالتهاب المخي الغربي في الخيل (WEEV) وفيروس الإنفلونزا، وفيروس فرة الدجاج "نيوكاسل"، وفيروس سينداي وفيروس الغدة النكفية، وفيروس الحصبة، وفيروس التهاب الفم المثاني VSV وفيروس القوباء وغيرها.

ولمحاولة عزل الفيروسات من أنسجة المرضى المشتبه بإصابتهم بعدوى مزمنة أو مثابرة، يجب أن نأخذ في حسابنا أنها يمكن أن تنمو أفضل عند درجات ٣١° م أو ٣٣° م بدلاً من درجة ٣٧° م.

وأخيرًا، فإن محصول الفيروس من الخلايا المصابة بعدوى مثابرة قد تحتوي خلاياه، في بعض الأحيان، علاوة على الفيروس المعدي، على طفرات منقوصة Deletion mutants ، أي تلك الدقائق الفيروسية التي ينقصها جزء من مورثها. وهذه

الدقائق الفيروسية التي لا يكون لها القدرة بذاتها على التكاثر، تتداخل Interfere مع ذلك، مع تكاثر الفيروس المعدي ومن ثم، فإنها تسمى الدقائق الناقصة المتداخلة (DI) Defective interfering. وإن وجودها يسبب تهبيط عدوى الفيروس، أي أنها تقلل عطب الخلايا ومن ثم، كمية الفيروس الناتجة. وقد ثبت دورها في بدء الإصابة المثابرة والحفاظ عليها بوضوح كما يلي: إن الدقائق الناقصة المتداخلة لفيروس التهاب الفم المثاني (V.S.V.)، وهي تسمى دقائق- ت T- Particles، عندما يجري حقنها في الحيوان مع الدقائق العادية المعدية من V.S.V. تتحول إلى إصابة مثابرة تتكشف ببطء بدلاً من أن تحدث إصابة قاتلة Fatal. إن تكوّن الدقائق الناقصة قد عُزي له سبب تكوين الإصابات المزمنة Chronic في حالات فيروس سينداي Sendai، وفيروس فرة الدجاج NDV والحصبة Measles والفيروس الليمفي المسبب لالتهاب الأغشية السحائية Lymphocytic choriomeningitis (الخاص بالفئران ولكنه قاتل للإنسان) وفيروس سيندبيس Sindbis وفيروس الالتهاب المخي الخيلي الغربي WEEV.

وباختصار العبارة، فإن إحلال سلالة الفيروس الشرس Virulent بسلالة أقل شراسة، وكذا تثبيط تكاثر الفيروس بالدقائق الناقصة (DI) يعدان عاملين أساسيين في تأسيس الإصابة المثابرة. وتُعدّ الإصابات المثابرة من هذا القسم (النوع) مهمة بالنسبة للعائل ككل، حيث إن وجود الأجسام المضادة Antibodies ضد الفيروس Antiviral ووجود كميات قليلة جدًّا من الممانع Interferon بحيث لا تستطيع أن تزيل الفيروس يكون من شأنها توفير ظروف تشجع حدوث إصابات مثابرة مستواها ضعيف Low-level. كما يجب ملاحظة أن نوع الإصابة المثابرة يمكن شفاؤه بإضافة كميات كبيرة من الأجسام المضادة المعادلة Neutralizing antibodies.

لقد سبق شرح تلك الإصابة المثابرة التي تحدث في عدد معين من الخلايا، فقط، والتي تتحرر منها كميات معتبرة Significant من الفيروس. ومع ذلك، توجد بعض الخلايا ذات الإصابة المثابرة التي لا يمكن أن يتحرر منها الفيروس، أو التي نادرًا جدًّا ما يتحرر منها الفيروس. ونذكر نوعًا واحدًا من مثل هذه الخلايا وهي تلك

المتحولة Transformed بفيروسات ح ن ر السرطانية RNA - tumor viruses. ونوع آخر هو تلك الخلايا التي لا تكون ساحمة Non-permessive بالمرة، أي أن الفيروس يستطيع أن يتكاثر بداخلها لكنه يتوقف Arrested عند طور أو آخر. وفيما يلي أمثلة لذلك: فمعظم فيروسات القوباء ذات ميل شديد لإصابة تلك الخلايا التي يكون تكشفها قد توقف طبيعيًّا، ولكن يمكن أن تتحر منها دقائق فيروسية معدية إذا كانت الظروف مناسبة، ويمكن لهذه الدقائق الفيروسية المتحررة أن تبدأ إصابة منتجة Productive في نوع آخر من الخلايا. وهذه هي ظاهرة الكمون Latency، ومن أحسن الأمثلة على هذه الإصابة الكامنة لفيروس القوباء *Herpes simplex* -١ للخلايا العصبية للعقد الحسية والتي ينبعث منها Emerges الفيروس ليسبب إصابات للجلد مثل بقاليل الحمى Fever blisters. والشكل الذي يثابر به فيروس القوباء في العقد العصبية غير معروف. وهذا النوع من الإصابة المثابرة، سواء بفيروس هيربيس سمبلكس -١ أو فاريسيللا - زوستر Varicella- Zoster أو الفيروس مضخم الخلايا Cytomegalovirus لا تكون عادة متقدمة Progressive، بمعنى أن الفيروس يتكاثر لبعض الوقت، ثم يصبح كامنًا Latent، ثم يبدأ إصابة منتجة. وتميل بعض الإصابات المثابرة من هذا النوع إلى إحداث مرض متقدم. ومن أمثلة ذلك التصلب المخي الشامل تحت الحاد Subacute sclerosing panencephalitis (SSPE) والذي هو إصابة للجهازالعصبي المركزي بفيروس قريب جدًّا من فيروس الحصبة Measles، والذي توجد فيه كميات كبيرة من الأغطية النووية Nucleocapsids الفيروسية في الخلايا المصابة، وكذلك مرض الخلايا البيضاء المخية متعدد البؤر المتقدم Progressive multifocal leucoencephalopathy والذي هو إصابة لفيروس من فيروسات بابوفا Papova.

(٩,١,٨) تحوير درجة السماحة الخلوية Modification of cellular permissiveness

يحدث، أحيانًا، أن يغير الفيروس درجة سماحة Permissveness الخلايا بأعجوبة خاصة بالنسبة للفيروسات بعيدة العلاقة Unrelated. وتكون مثل هذه

إلتأثيرات عالية التخصص والنوعية. فعلى سبيل المثال، يمكن للفيروس المرتبط بالأدنو Adeno-associated virus (AAV) أن يتكاثر، فقط، في الخلايا المصابة بفيروس الأدنو، ويمكّن فيروس إس - في - ٤٠ (SV - 40) فيروس الأدنو من النمو في خلايا القرود. كما أن فيروسات الجدري مثل فاكسينيا Vaccinia وفيروس التليف Fibroma virus تمكّن فيروس التهاب الفم المثاني (VSV) من التكاثر في خلايا الأرانب. وطبيعة الوظيفة المساعدة Helper function هذه غير معروفة بالرغم من أنه، من الواضح، أن التعبير عن الفيروس المساعد مبكرًا لا بد أن يحدث في كل الحالات. ومع ذلك، فإنه يمكن ألا يعطي الفيروس المساعد، في كل هذه الحالات، منتجات جين التي يمكن استخدامها بطريقة ما بالفيروس الآخر، ولكن ما قد يحدث هو أن الفيروس المساعد يحور الخلية في بعض من طرقها الرئيسية والتي من شأنها أن تمكن الفيروس الثاني من التكاثر.

الفصل العاشر

زراعة الفيروسات ومعايرتها وتحليلها

Cultivation, Assay and Analysis of Viruses

(١٠,١) الزراعة Cultivation

نقصد بالزراعة إكثار Propagation الفيروس وتنميته Growing. وبسبب أن الفيروسات متطفلات إجبارية داخل خلوية، فإنها لا يمكن أن تتكاثر في أي وسط خالٍ من الخلايا Cell - free medium مهما كان معقدا.

(١٠,١,١) الفيروسات الحيوانية Animal viruses

(١٠,١,١,١) استخدام الحيوانات المعملية Use of laboratory animals

لزراعة الفيروسات الحيوانية، يمكن أن تستخدم حيوانات بأكملها أو أطوار منها لهذا الغرض. ويمكن أن تؤسس إصابة الحيوان بحقن معلق الفيروس، باستخدام محقن Syringe وإبرة، في الحيوان. ويمكن أن يكون طريق الحقن إما في المخ (I.C) Intracerebrally، وإما في التجويف البريتوني (I.P) Intraperitoneally أو في العضلات (I.M) Intramuscularly. وفي حالات نادرة، يتم الحقن في الوريد (IV) Intraveinously أو بالرش في الأنف Intranasally.

(١٠,١,٢) استخدام جنين الدجاج

يعد حقن كثير من الفيروسات في جنين الدجاج أمرًا ضروريًا كما هو الحال عند عزل فيروس الإنفلونزا لأول مرة، وكذلك يستخدم جنين الدجاج لتنمية الفيروسات

اللازمة لعمل اللقاحات: الحصبة، والحصبة الألمانية، والغدة النكفية ونيوكاسل الدجاج وغيرها. وتوجد عدة طرق لحقن جنين الدجاج: على الغشاء السقائي المشيمائي Chorioallantoic membrane والتجويف السقائي Allantoic cavity والتجويف الرهلي Amniotic cavity وكيس المح Yolk Sac أو الجنين Embryo.

في هذه الأيام تفضل طريقة غير مكلفة وموثوق بها وأكثر إنتاجية، وهي زراعة الفيروسات في المزرعة الخلوية Tissue or cell culture.

(١٠,١,٣) استخدام المزارع الخلوية Use of cell cultures

(أ) مزرعة الأعضاء Organ culture

تؤخذ خزعة Biopsy أو شرائح Slices من أعضاء الحيوانات المعملية ويمكن أن يُحافظ Maintenance على تركيبها الأصلي ووظائفها لعدة أيام وأحيانًا لبضعة أسابيع إذا حُفظت في وسط نمو معقم Aseptic growth medium وتستخدم، غالبًا، أعضاء مثل الكُلى والكبد.

(ب) المزرعة النسيجية Tissue culture

وهي تعني - الآن - المزرعة الخلوية Cell culture. ولعملها، تُفكّك الأنسجة الحيوانية إلى معلق من خلايا مفردة أو كتل Clumps صغيرة وذلك بفرمها Mincing ميكانيكيًّا، ثم تعامل بعد ذلك بوساطة إنزيمات محللة البروتين Proteolytic enzymes مثل التربسين Trypsin (بتركيز محدد ولوقت محدد). وبعد غسل الخلايا وعدها، تخفف في الوسط الغذائي الذي يحتوي على العناصر والأملاح الأساسية بالإضافة للحموض الأمينية ومصدر الطاقة الكربوني والتي تفضل إذابتها في محلول منظم Buffer مضبوط الأس الهيدروجيني. هذا بالإضافة إلى عناصر النمو الموجودة في مصل جنين البقر Fetal calf seum (٥ - ١٠٪). وتضاف لهذا الوسط الغذائي المضادات الحيوية Antibiotics ودليل لوني يبين التغير في الأس الهيدروجيني. ويسمح للخلايا المضافة لوسط النمو بأن تستقر على سطح مستوٍ

في أوعية زجاجية أو بلاستيكية معاملة بطريقة خاصة. وتلتصق معظم الخلايا بسرعة بجدار الوعاء، وتحت الظروف المناسبة فإنها، تنقسم نحو مرة كل يوم حتى يغطى سطح الوعاء بحصيرة Sheet من طبقة واحدة مكتملة الافتراش Confluent monolayer من الخلايا. ويعتمد هذا، غالبًا، على مكونات وسط النمو، والأس الهيدروجيني (٧,٤) ونوع المصل وتركيزه. كما تنمى الخلايا في حضانات تحتوي على ٥٪ غاز ثاني أكسيد الكربون (حضانات ثاني أكسيد الكربون Carbon dioxide incubators) أو أن يضاف لوسط النمو محلول منظم البيكربونات لكي يضمن تصاعد غاز ثاني أكسيد الكربون CO_2.

(١٠,١,٣,١) أنواع المزارع الخلوية Types of cell culture

١ - المزارع الخلوية الابتدائية Primary cell cultures

عندما تؤخذ الخلايا طازجة من الحيوانات وتوضع في مزرعة، فإن هذه الخلايا المفككة من أي عضو (كُلى، كبد، أو غيره) تتكون من أنواع مختلفة من الخلايا ومعظمها يكون له قدرة محدودة جدًّا على النمو في المعمل ربما لا تتجاوز انقساماتها الخلوية ٥ - ١٠ مرات. ومع ذلك، فإنها تدعم تكاثر مدى واسع من الفيروسات. ويستخدم لهذا الغرض مزارع إبتدائية مشتقة من كُلى القرود والكُلى الجنينية للإنسان أو من الجنين ومن أجنة الفئران أو الدجاج. وتستخدم هذه المزارع في معامل الفيروسات وفي إنتاج اللقاحات Vaccines. ومن أمثلتها مزارع كُلى الأبقار Bovine Kidney (B.K) لتنمية لقاح فيروس الطاعون البقري Rinderpest virus ومزارع أجنة الدجاج الليفية Chick embryo fibroblasts (CEF)، أيضًا، لتنمية لقاحات لفيروسات أخرى تصيب الإنسان والحيوان.

(١٠,١.٣,٢) المزارع الخلوية ثنائية المجموعة الصبغية Diploid cell cultures

هذه أنواع مفردة من الخلايا تفصل وحدها، ويكون لها القدرة على أن تنقسم في المعمل لنحو ١٠٠ جيل قبل أن تموت. وهذه الخلايا تحتفظ بأعداد كروموسوماتها الزوجية مثل الأصل تمامًا، وتحتفظ بتكوينها الوراثي والفسيولوجي دائمًا. وهي تشتق

من المزارع الابتدائية، وعلى الأخص، الجنينية منها، وبصفة خاصة، المستمدة من أجنة البشر (بعد الإجهاض أو موت الأم أو حادث أو ما شابه ذلك). وتوزع هذه الخلايا في وسط نمو للحفاظ Maintenance medium مضافًا إليها جليسرول أو ثنائي ميثيل سلفوكسايد "دمسو" Dimethyl sulfoxide DMSO ومبردة بالتدريج ومخزنة في عبوات Vials صغيرة في النيتروجين السائل. وعند الحاجة، تستخدم عبوة لعمل مزارع نسيجية تكفي لغرض التجربة، وهكذا كل مرة.

(١٠,١,٣,٣) مزارع خلوية مستمرة (خطوط خلوية) Continuous cel cultures (Cell lines)

وهذه المزارع من نوع واحد من الخلايا التي تكون لها القدرة على التكاثر والانقسام في المعمل إلى ما لا نهاية. ومثل هذه الخلايا التي لا تموت "المخلدة" "Immortal" تنشأ من سرطانات Cancers أو بإحداث تحويل Transformation في المعمل لسلالة خلوية ثنائية المجموعة الصبغية. وغالبًا، لم تعد تحمل هذه الخلايا تشابهًا مع خليتها الأصلية والخطوط الخلوية مثل HEp - 2 , HeLa , K B مشتقة، أصلاً من سرطانات بشرية، ولكنها تدعم تكاثر الفيروسات. والخطوط الخلوية تكون، غالبًا غير مزدوجة الكروموسومات Aneuploidy كما قد تكون مولدة للسرطان Tumorgenic. ومن ضمن هذه الخطوط الخلوية L 929 و 3 T 3 من الفئران و BHK - 21 من كلى رضيع الهامستر وخلايا فيرو Vero من كلى القرد الأفريقي الأخضر و XTC - 2 من ضفدعة جنوب أفريقيا المخلبية *Xenopus laevis*. وتستعمل الخلايا البشرية الجنينية للرئة مثل WI - 38 , MRC - 5 وغيرها الآن لإنتاج اللقاحات خاصة.

(١٠,١,٣,٤) التعرف على النمو (التكاثر) الفيروسي في المزرعة الخلوية

Recognition of viral growth (multiplication) in cell culture

يمكن بيان تكاثر العديد من الفيروسات ونموها في المزرعة الخلوية بطرق كيموحيوية تتضمن: الزيادة في البروتينات الفيروسية والحامض النووي الفيروسي

وخلفة الفيروس Virus progeny. ويمكن أن يوضح الفحص بالمجهر الإلكتروني تكاثر الفيروس وموضعه داخل الخلية المصابة. ومع ذلك، فإنه توجد طرق دورية روتينية لبيان نمو الفيروس في المزرعة الخلوية، وهذه تتضمن:

(أ) التأثيرات المرضية الخلوية Cytopathic effects (CPE)

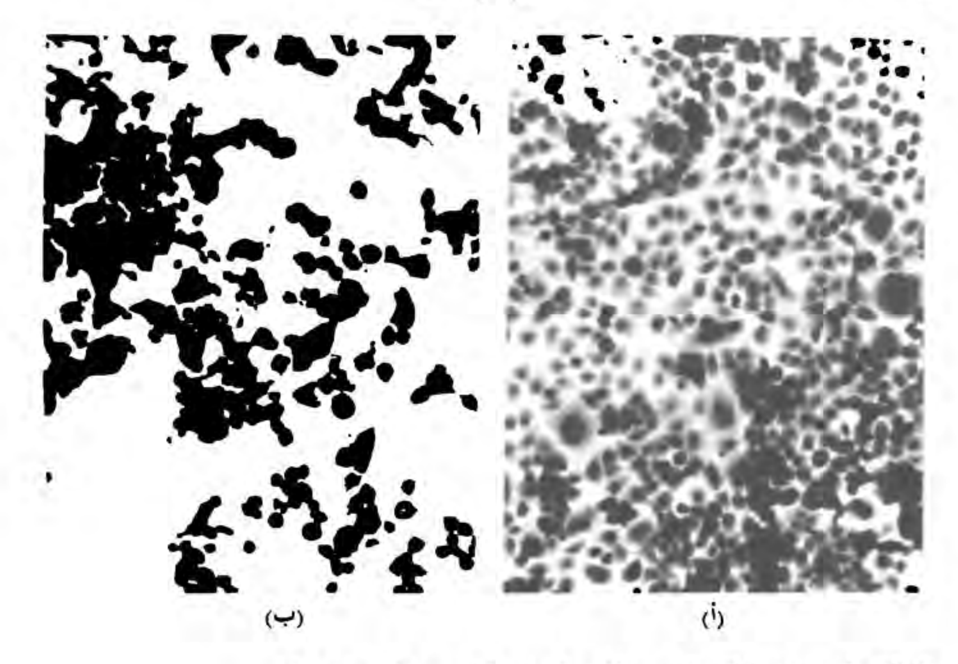
يسبب الفيروس، عادة، الموت للخلايا التي يصيبها، وتبعًا لذلك، فإن الفيروسات التي أصابت المزرعة الخلوية وحيدة الطبقة Cell culture monolayer تحدث، تدريجيًّا، تأثيرات نسيجية دليلاً على عطب الخلية. وتسمى هذه التغيرات بالتأثيرات المرضية الخلوية CPE أي المرض أو الضرر الذي يحدثه الفيروس على مستوى الخلية، كما يعرف هذا الفيروس بأنه المولد للتأثير المرضي الخلوي Cytopathogenic. ويمكن الكشف عن التأثير المرضي الخلوي إما في الخلايا وهي حية وإما في الخلايا المثبتة Fixed والمصبوغة Stained. ويعتمد التأثير المرضي الخلوي، أساسًا، على: نوع الفيروس، ونوع الخلية، والظروف السائدة. ويتضمن التأثير المرضي الخلوي: تكوين فراغات Vacuolation وتكوين أجسام محتواة Inclusion bodies وتحبب Granulation وتغيرات شكلية قد تتضمن تكوين مدمجات خلوية Syncytia formation (اندماج خلوي Cell fusion). ويمكن أن يؤدي التأثير المرضي الخلوي القاسي إلى موت الخلايا التي تنفصل Detach وتطفو Float مع التدمير النهائي للخلايا وحيدة الطبقة (الشكل رقم ٤١).

ويمكن أن يعزى التأثير القاتل Lethal effect للفيروس على الخلية إلى العوامل التالية:

١ - تكاثر المورث Genome (مجين) الفيروسي أو منتجاته التي تؤثر على آليات الخلية أو تنظيمها Regulation.

٢ - تغيرات كيموحيوية قاسية. إذ إن البروتينات التي يشفرها الفيروس مبكرًا تقفل Shut off تصنيع البروتين و ح ن ر الخلويين.

٣ - تتراكم بعض بروتينات الغطاء الفيروسي مؤخرًا في الإصابة، وقد تكون سامة بذاتها مباشرة.



الشكل رقم (٤١). التأثير المرضي الخلوي لفيروس فاكسينيا على خلايا هيلا.

(أ) خلايا سليمة.

(ب) خلايا مصابة تظهر التأثير المرضي الخلوي.

٤ - تشوه Distort ، تشكيلات Congregations الفيريونات أو البروتينات الفيروسية في تكتلات بلَورية كبيرة أو في أجسام محتواة داخل التركيب الخلوي.

٥ - التغير الجوهري في نفاذية Permeability الغشاء الخلوي.

٦ - استنزاف Depletion الأصول Precursors والمواد الخام الخلوية وبخاصة تلك المستخدمة في بناء الفيروس المتكاثر.

٧ - استهلاك Exhaustion طاقة الخلية وقفل مسارات أيضية Metabolic معينة.

٨ - تسرب Leakage الإنزيمات المحللة الهادمة Lysozymes من الليسوزومات Lysosomes الخلوية مما ينتج عنه الهضم الذاتي Autolysis للخلية.

(ب) الإدمصاص الدموي Haemadsorption

إن فيروسات مثل الإنفلونزا Influenza والحصبة Measles وغيرها كثير، والتي تتبرعم Bud من الأغشية السيتوبلازمية للمزارع الخلوية المصابة، تكتسب القدرة على ادمصاص Adsorption خلايا الدم الحمراء (RBC's) Erythocytes، ويرجع هذا الادمصاص الدموي إلى تضمين Incorportation البروتينات الفيروسية ضمن الغشاء البلازمي للخلية، والتي يكون لها ميل للارتباط مع خلايا الدم الحمراء. ويمكن أن يستخدم الادمصاص الدموي للتعرف على الإصابة الفيروسية للفيروسات التي لا تحطم الخلايا ولا تسبب فيها أي تأثير مرضي خلوي Non-cytopathogenic ، وكذلك في الأطوار المبكرة للإصابة بالفيروسات القاتلة للخلايا Cytocidal viruses.

(جـ) التداخل Interference

من المؤسس جيدًا - الآن -أن تكاثر أحد الفيروسات في خلية ما يثبط تكاثر فيروس آخر أعقبه في الدخول إلى الخلية نفسها. وقد ساعدت هذه النظرية، على تداخل الفيروس الأول ومنعه تكاثر الفيروس الثاني، في اكتشاف فيروس الحصبة الألمانية Rubella virus. إذ إن فيروس الحصبة الألمانية يصيب المزرعة الخلوية لكلى القرود دون أي تأثير مرضي خلوي (no CPE)، إلا أن تحدي Challenge هذه الخلايا (أي إحداث إصابة فوقية Superinfection) بفيروس إكو ECHO virus، لا تسمح للأخير بأن ينتج تأثيرًا مرضيًا خلويًا. ومن المعروف أن فيروس إكو لا يمت بصلة لفيروس الحصبة الألمانية، وأنه يصيب هذه الخلايا مع إنتاج تأثير مرضي خلوي. وتعد ظاهرة التداخل هذه تقنية مفيدة عند البحث عن فيروسات جديدة غير مولدة للمرض الخلوي. Non-cytopathogenic.

(١٠,١,٣,٥) زراعة الفيروسات النباتية Cultivation of plant viruses

تستخدم لتنمية الفيروسات النباتية وإكثارها وزراعتها بإحدى الطرق التالية :

(١٠,١,٣,٦) الحقن الميكانيكي Mechanical inoculation

لا تمتلك الخلايا النباتية أية مواضع استقبال Receptor sites لتسهل دخول الفيروسات إليها، إذ إن الخلايا النباتية تمتلك جدرًا خلوية من السيليلوز أو الهيمسيليلوز أو اللجنين أو السوبرين والتي لا تكون منفذة وربما تكون، علاوة على ذلك، مزودة بطبقات من الكيوتين. وتبعًا لذلك، فإن الفيروسات النباتية لا يمكن أن تدخل إلى الخلايا القابلة للإصابة وإنما يجب إدخالها بالقوة وبطريقة صناعية Artificially عن طريق الحقن الميكانيكي Mechanical inoculation. ويمكن أن يجري الحقن الميكانيكي بسهولة إما عن طريق معلق من الفيروس النقي وإما بوساطة عصير من أوراق النبات المصاب. ولإحداث الإصابة في النبات العائل، فإن مادة خادشة (حاكة = صنفرة) Abrasive مثل الكربوراندام Carborundum أو سيلايت Celite، يمكن أن تعفر Dusted على الأوراق المراد إحداث إصابة بها، أو أن تخلط مع محقن الفيروس Virus inoculum. وباستخدام الأصابع المغموسة في محقن الفيروس ومسحها برقة على السطح العلوي للأوراق، فإن جدر الخلايا المخدوشة سوف تسمح بدخول الفيريونات إلى داخل الخلية وتأسيس الإصابة. وبتوفير الظروف الملائمة لنمو النبات العائل ولتكاثر الفيروس، فإن هذا ينتج عنه تكاثر الفيروس وإنتاج الأعراض المرضية المميزة لمثل هذا المرض.

(١٠,١,٣,٧) العدوى الأحيائية Biological infection

بعض الفيروسات النباتية لا يمكنها أن تحدث إصابة عند حقنها ميكانيكيًا في النبات. وتنتقل مثل هذه الفيروسات في الطبيعة بوساطة ناقلات Vectors. والكثير من هذه الناقلات حشرات (لكن هناك غيرها مثل الديدان الاسطوانية - والفطريات وغيرها). وعند الحقن في المعمل، تربى Reared الحشرة الناقلة مثل المن Aphids في المعمل وتغذى على النباتات المصابة أو على العصير، بعدئذ، ينقل هذا المن ويوضع في أقفاص Cages صغيرة على النباتات السليمة. ومن خلال أجزاء الفم الثاقب الماص Piercing sucking، يحقن المن الفيروس في النبات العائل ومن ثم، يتكاثر الفيروس.

(١٠,١,٣,٨) الكاللوس والبروتوبلاستات Callus and protoplasts

يمكن زراعة أجزاء النبات أو أعضائه وتنميتها صناعيًّا على مزرعة آجار Agar culture مدعمة بكل المغذيات Nutrients وظروف النمو اللازمة. ثم تحقن الأعضاء أو الفروخ Sprouts النامية بعد ذلك بإحدى الطرق السابقة.

أما مزرعة الكاللوس والقطع الخضرية فإنها تستخدم كثيرًا لتحرير أصول التكاثر Stocks المصابة بالفيروس من هذه الإصابة. وقد أمكن، حديثًا، استخدام المزارع النسيجية في زراعة الفيروسات النباتية وإكثارها. وفيها يقطع العضو النباتي المناسب ويفك Macerated إلى خلايا مفردة. ويعامل معلق الخلايا الناتج، عادةً، بإنزيمات تفكيك Macerozymes تتضمن إنزيم سيليوليز Cellulase وبكتينيز Pectinase لهضم الجدر الخلوية. وتعرف الخلايا النباتية عديمة الجدر باسم بروتوبلاستات Protoplasts. عندئذ، يعقب حقن الفيروس أو إضافته على البروتوبلاستات إصابتها بكفاءة. وتعد هذه التقنية مفيدة جدًّا في كلٍّ من إكثار الفيروس وبيان Monitoring أحداث الإصابة والتكاثر. وللأسف، فعلى خلاف المزارع الخلوية الحيوانية، تعد مزرعة البروتوبلاست ذات قدرة محدودة على إعادة الاستزراع Subculture لأكثر من مرة واحدة (أي أنها تشبه المزارع الخلوية الابتدائية الحيوانية).

(١٠,١,٣,٩) زراعة الفيروسات البكتيرية Cultivation of Bacterial viruses

من السهل جدًّا زراعة الفيروسات التي تصيب البكتيريا (= لاقمات البكتيريا Bacteriophages). ويلزم لذلك تنمية خلايا بكتيرية حساسة للإصابة بحيث تكون طازجة النمو أو حديثة النمو (٤ -١٢ساعة)، وتتم التنمية وزراعة الخلايا البكتيرية على وسط غذائي خاص بهذه البكتيريا. ويجب أن يقنن Standardized محقن Inoculum اللاقم روتينيًّا، وذلك تبعًا لعدد الفيريونات ولعدد الخلايا البكتيرية (المكونة للمستعمرات) وذلك في طورها اللوغاريتمي. ويتطلب هذا سابق التقدير لتعكير Turbidrty المعلق البكتيري بالنسبة لعد المستعمرات Colony count التي يكونها.

وتتميز الفيروسات البكتيرية بتكاثرها السريع جدًا ؛ ففي خلال ساعات قليلة من إصابة الخلايا البكتيرية ، يحدث تحلل بمجرد أن تصل خلفه Progeny الفيروسات إلى حجم الانفجار Burst size ، ويمكن أن يكتشف تحلل Lysis المزارع البكتيرية بسهولة عن طريق نقص التعكير Less turbidity مقارنة بالتجارب المقارنة Controls أو عن طريق معايرة الارتفاع في عدد اللاقمات.

(١٠,١,٣,١٠) زراعة فيروسات الحشرات

تعد اليرقات Larvae أكثر أطوار دورة الحياة حساسية للإصابة بفيروسات الحشرات. وفي بعض الأحيان ، فإن انسلاخًا Instar معينًا من اليرقات يكون أكثر حساسية للإصابة بالفيروس من غيره من انسلاخات اليرقة. وإما أن يزود معلق المحقن الفيروسي في الغذاء الذي تتغذاه اليرقات وإما أن يرش مباشرة على اليرقات. ويلاحظ أن اليرقات المريضة بالفيروس تظهر إفرازات أو تغيرات في لون الجلد وتعد هذه مصدرًا للفيروس المزروع.

(١٠.٢) المعايرة (Titration Assay)

معايرة الفيروس تعني تحديد قوته حسابيًا Titration أو ، بمعنى آخر ، هو التقدير الكمي Quantitation لعدد الفيريونات (الدقائق الفيروسية الكاملة الحية المعدية) أو أنه تقدير العدوى كميًّا Quantitative infectivity.

(١٠,٢,١) معايرة الفيروسات الحيوانية Assay of animal viruses

يمكن أن يعاير Titrated محتوى الفيروسات المعدية في أي معلق فيروسي مجهول عن طريق إحداث عدوى به : للمزارع الخلوية أو لأجنة الدجاج أو للحيوانات المعملية ، بعمل سلسلة Series من تخفيفات المعلق الفيروسي في محلول منظم الفوسفات الملحي (PBS) بحيث تكون عشرية القوة 10-fold: أي $\frac{١}{١٠}$ و $\frac{١}{١٠٠}$ و $\frac{١}{١٠٠٠}$

وهكذا، ثم تفحص على مدى الأيام التالية للحقن لمشاهدة دليل على تكاثر الفيروس. ويوجد نوعان من معايرة الإصابة يجب التمييز بينهما وهما: الكمي Quantitive والكمي غير المحدد Quantal.

(١,٢,١,١) المعايرات الكمية Quantitative assays

وفي هذه الطرق يقدر عدد الفيريونات (الدقائق الفيروسية الحية المعدية) وفيما يلي الطرق التي تستخدم في المعايرات الفيروسية Viral titrations:

١ – معايرات الروائق Plaque assays

وقد تأسست هذه الطريقة بوساطة دلبيكو Dulbecco وزملائه عام ١٩٥٢م. وهي تحوير للطرق التي اكتشفت من قبل واستخدمت في معايرة روائق لاقمات البكتيريا. وفي هذه الطريقة، يخفف المعلق الفيروسي الخام (Neat) عشريًا ويضاف (يحقن) كميًا بحجم ثابت على حصيرة الخلايا وحيدة الطبقة كاملة الافتراش Confluent monolayer sheet المزروعة كخلايا منفصلة في طبق مقسم إلى عيون (حفر = آبار Wells) أو في أطباق بتري وأحيانًا، في زجاجات مستوية القاع. بعدئذ، تحضن المزارع الخلوية المحقونة لمدة ساعة في حضانة عند درجة ٣٧° م حتى تتم عمليات اتصال Attachmeht الفيريونات وادمصاصها Adsorption بالخلايا ويتبع ذلك بسكب وسط النمو السائل للتخلص من الفيروسات الزائدة حتى لا تعيق التكاثر، ثم يحل محلها وسط نمو يحتوي إما على جل صلب (مثل الآجار)، وإما على شبه جل Semigel مثل كاربوكسي ميثيل سيليلوز Carboxymethyl cellulose (CMC). ويحضر الآجار أو CMC بإضافة حجم واحد من الجل إلى وسط نمو سائل مزدوج القوة (2x). وبعد وضع الطبقة المغطية للجل Gel overlay، يجب أن تبقى الأوعية مستقرة في موضعها لمدة ساعة حتى يحدث تصلب Solidification متساوٍ للجل، ثم تحضن بعد ذلك عند درجة الحرارة المناسبة. ويضمن الجل التوزيع المقيد Restricted spread للخلفة Progeny من الدقائق

الفيروسية بحيث لا تنتقل، فقط، إلا إلى الجوار Vicinity المباشر لموقع الفيروس الأصلي الذي أحدث الإصابة في هذا الموقع، فقط. بناء عليه، فإن كل دقيقة فيروسية معدية (فيريون) سوف تعطي بؤرة Focus موضعية Localized من الخلايا المصابة، والتي تصبح، بعد بضعة أيام، كبيرة بدرجة تكفي لرؤيتها بالعين المجردة.

وعقب التحضين لفترة تمتد من يومين إلى ٤ أسابيع، اعتمادًا على نوع الفيروس موضع الدراسة، فإن الخلايا وحيدة الطبقة Cell monolayer تصبغ بصبغة حيوية Vital stain، مثل الأحمر المتعادل Neutral red أو بنفسجي الكريستال Crystal violet أو تترازوليام الأسود (نفثالين الأسود Tetrazolium or naphthalene black) وتمتص الخلايا الحية، فقط، الصبغة وتظهر الروائق Plaques كمناطق رائقة Clear شفافة ضد خلفية مصبوغة والتي يسهل عدها وتوصيفها.

ويمكن معايرة الفيروسات غير القاتلة للخلايا Noncytocidal بطريقة مماثلة، إذ يمكن التعرف على الروائق بتقنيات مثل الادمصاص الدموي Haemadsorption أو التداخل Interference أو بالصبغ بالجسم المضاد الوميض Fluorescent antibody staining.

وبعض الفيروسات الأخرى، مثل: الفيروسات القوبائية Herpes viruses وفيروسات الجدري Poxviruses تنتج روائق حتى في خلايا وحيدة الطبقة منماة في وسط سائل، ويرجع ذلك لأن الفيروسات التي تتكون حديثًا تظل مرتبطة Associated مع الخلية، ومن ثم، فإن الروائق تتكون عن طريق الانتشار بين الخلايا المتجاورة Adjacent من خلال القناطر الخلوية Intracellular bridges.

وتكفي الإصابة بفيريون واحد (دقيقة فيروسية حية معدية) ليكون رائقة، لهذا، فإن عيارية الإصابة Infectivity titer للمعلق الفيروسي الأصلي يمكن تقديرها بمعنى "الوحدات المكونة للروائق" "Plaque forming units "P.F.U" (للمليلتر أي PFU/ml). وسوف يكون الخطأ أقل ما يكون إذا قدرت العيارية من أطباق محقونة بتخفيف من الفيروس يعطي نحو ٢٠ إلى ١٠٠ رائقة لكل طبق، اعتمادًا على حجم الرائقة.

ويتم الكشف عن الروائق بطرق عدة هي:

(أ) **التأثير المرضي الخلوي Cytopathic effect (CPE)**: إذ إن الفيروس يقتل، غالبًا، الخلايا المصابة، بمعنى أنه ينتج تأثيرًا مرضيًّا خلويًّا CPE، وبعدئذ، يمكن الكشف عن الروائق بصبغ طبقة الخلايا بصبغة تصبغ، فقط، الخلايا الحية (مثل الأحمر المتعادل) أو بصبغة تصبغ، فقط، الخلايا الميتة (مثل تريبان الأزرق Trypan blue).

(ب) **الادمصاص الدموي Haemadsorption**: بالنسبة لفيروسات معينة، لاتقتل الخلايا الموجودة بالروائق، ولكنها تكتسب القابلية لادمصاص خلايا الدم الحمراء، لهذا، فإن الروائق تظهر، فقط، بالادمصاص الدموي. بمعنى أن تغمر طبقة الخلايا بمعلق من خلايا الدم الحمراء، ثم تسكب وتغسل بمحلول منظم لإزالة خلايا الدم غير المدمصة ولكن تظهر الأماكن الحمراء بعد ذلك على أرضية شفافة، فتحدد، بذلك، المناطق الحمراء أماكن الروائق أو أماكن تكاثر الفيروس.

(جـ) **المدمجات الخلوية Syncytia** (الخلايا متعددة المجموعات الصبغية Polykaryocytes: وهي تعني الخلايا عديدة الأنوية Multinucleated cells أوالخلايا العملاقة Giant cells وفيها تندمج الخلية المصابة بالفيروس بالخلايا المجاورة غير المصابة لتكون هذه المدمجات الخلوية عديدة الأنوية، ويمكن الكشف عنها مجهريًّا. وهي خاصية لمعظم فيروسات العائلة شبه المخاطية Paramyxoviridae مثل فيروسات الحصبة والغدة النكفية والطاعون البقري وسينداي وغيرها.

(د) **الوميض المناعي Immunofluorescence**: تحتوي خلايا الروائق غالبًا على كميات كبيرة من الأنتيجينات الفيروسية، والتي يمكن الكشف عنها بوساطة الوميض المناعي عندما تضاف إلى هذه الخلايا أجسام مضادة للفيروس تكون مُعَلَّمة Labeled بمادة وميضة (لاصفة) والتي تفحص بعدئذ بوساطة المجهر الضوئي المزود بإضاءة فوق بنفسجية.

ومما تجدر الإشارة إليه أن روائق أي فيروس على نظام خلوي واحد تتميز بثبات حجمها وشكلها وإطارها Outline وإن أي تغير أو طفرة أو وجود سلالات يمكن أن يكتشف

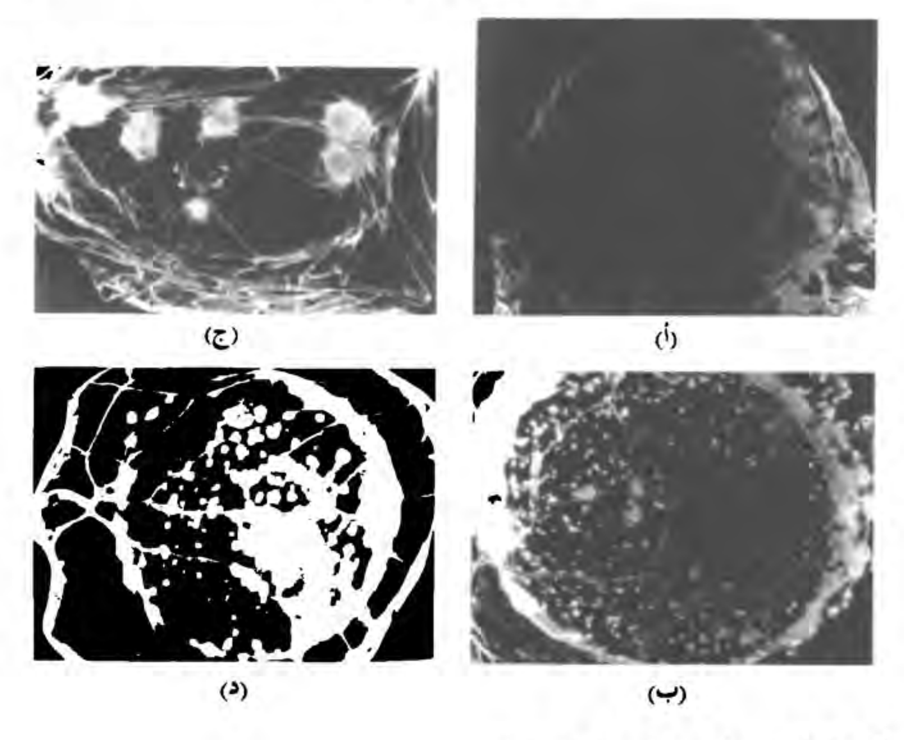
بوساطة الروائق. وعادة ما يُعزل فيروس نقي أو نسيلة Clone من الفيروس عن طريق تنسيل Cloning رائقة واحدة منفصلة تحقن بعد ذلك لإكثارها في مزرعة خلوية.

٢ – معايرات الجيوب البثرية (التجديرات) Pock assays

إن إحداث عدوى من فيروسات الجدري Poxviruses أو الفيروسات القوبائية Herpes viruses على الغشاء السقائي المنباري Chorioallantoic لجنين الدجاج يؤدي لتكوين آفات Lesions تشبه الجيوب البثرية Pock-like. وكل جيب بثري يكون راجعًا إلى عدوى من دقيقة فيروسية مفردة. وتنتج فيروسات الجدري وفيروسات القوباء جيوبًا بثرية مختلفة بشكل مميز على الأغشية السقائية المنبارية (الشكل رقم ٤٢).

٣ – معايرات التحول Transformation Assays

تسلك الفيروسات المولدة للسرطان Oncogenic viruses في الخلايا التي تصيبها بآليتين مختلفتين. فالفيروس إما أن يتكاثر في الخلايا منتجًا تأثيرًا مرضيًا خلويًا CPE وهو الذي يقتل الخلايا، وإما أنه يكون غير قاتل Non-cytocidal ولا يتكاثر لكنه "يحول" Transforms الخلية. والخلايا المتحولة لا تقتل ولكنها تتغير إلى خلايا سرطانية Cancer cells، إذ تكتسب خواص الخلايا السرطانية. وبسبب أن هذه الخلايا تظهر قليلا من تثبيط الاتصال Contact inhibition، فإنها تنمو بسرعة شديدة جدًّا بدون أي تقييد وتنتج خلايا متكومة Heaped-up تعرف بالورم الدقيق Microtumour، إذ تبرز واضحة على خلفية من الخلايا العادية وحيدة الطبقة. ومن عدد هذه البؤر Foci (= أورام دقيقة)، يتبين أنه من السهل جدًّا حساب عدد الفيريونات التي كونت هذه البؤر الورمية. ولهذا السبب، يطلق على هذه الطريقة: المعايرة البؤرية Focal assay. وهذه التقنية تعد مريحة ومناسبة لمعايرة فيروسات ح ن ر المولدة للسرطان Oncogenic RNA viruses مثل فيروس ساركومة راوس Rous sarcoma باستخدام المزارع الخلوية الليفية لجنين الدجاج (CEF). ومع ذلك، فإنه الأفضل لفيروسات ح ن د المولدة للسرطان DNA oncogenic viruses.



الشكل رقم (٤٢). الجيوب البثرية (التجديرات):
(أ) غشاء سقائي منباري عادي.
(ب) جيوب بثرية لفيروس فاريولا.
(جـ) جيوب بثرية لفيروس فاكسينيا.
(د) جيوب بثرية لفيروس القوباء البسيط البشري (عن كوهن، ١٩٦٩م).

(١٠,٢,١,٢) المعايرات الكمية غير المحددة Quantal assays

وهذا النوع من المعايرة لا يسجل عدد الدقائق الفيروسية الحية المعدية في المحقن، لكنه يسجل، فقط، ما إذا كان الفيروس موجودًا أو غير موجود على الإطلاق. وبكونه معايرة موجودة من عدمها All - or - none، لذا فإنه غير دقيق، ويستخدم، فقط، بالنسبة للفيروسات التي لا تكون روائق Plaques، أو تعمل سلسلة عشرية من تخفيفات للفيروس ثم تحقن في عدة مكررات Replicates من المزارع

الخلوية أو أجنة الدجاج أو الحيوانات المعملية. ويسمح بوقت كاف كي يتكاثر الفيروس وينتشر ليدمر كل المزرعة الخلوية أو أن يقتل جنين الدجاج أو الحيوان حسبما تكون الحالة. والنتيجة تكون إما موجبة وإما سالبة في وحدة الاختبار. ومن النتائج، يمكن أن تستخلص فكرة تقريبية عن العيار الفيروسي عن طريق معرفة التخفيفات المتوسطة التي عندها جزء واحد، فقط، من وحدات الاختبار والتي تظهر علامات العدوى كما يمكن التوصل إلى نقطة النهاية ٥٠٪ (50% endpoint). وعند هذا التخفيف، تحتوي كل عينة على متوسط ٥٠٪ من جرعة العدوى ID_{50}، بمعنى أن جرعة واحدة معدية في ٥٠٪ من وحدات الاختبار.

(١٠,٢,٢) معايرة الفيروسات النباتية Assay of Plant Viruses

(١٠,٢,٢,١) معايرة الجروح الموضعية Local Lesion Assay

لقد قدم هولمز Holmes هذه الطريقة لأول مرة عام ١٩٢٩م، وقد بين أن جروحا تقرحية موضعية Necrotic local lesions تنتج على أوراق نبات التبغ نوع *Nicotiana glutinosa* عقب الحقن الميكانيكي بفيروس تبرقش التبغ Tobacco mosaic virus (TMV)، والتي يمكن أن تستخدم لمعايرة الإصابة النسبية Relative infectivity للفيروس. وأن الحقن الميكانيكي للنبات العائل الكشاف Indicator host plant، يمكن إجراؤه عن طريق مسح المعلق الفيروسي + الكربوراندام أو بعد تعفير Dusting الكربوراندام على السطح العلوي للأوراق. وسوف تنتج إصابة محددة Restricted وليست جهازية Systemic تعطي جروحا موضعية تقرحية Necrotic أو شحوبية Chlorotic أو بقعًا حلقية Ringspots. وفي بعض الحالات، تنتج جروحا نشوية Starch lesions ممسوكة (مبرقعة) Masked والتي تستلزم إزالة لون كلوروفيل الأوراق بوساطة المعاملة بالكحول الإيثيلي، ثم يضاف، بعدئذ، محلول اليود في يوديد البوتاسيوم ليعطي لونًا أزرقًا داكنًا في مواضع النشا المتراكم موضعيًا. وللتقدير المناسب للاختلافات في تركيزات الفيروس، يمكن الأخذ في الاعتبار الظروف التالية :

(أ) الاحتياجات الغذائية.

(ب) تجانس وراثة النبات والنمو وعمر النبات وحتى موضع الأوراق المصابة. كما ينتج عن حقن نصف الورقة نتائج دقيقة لدرجة كبيرة.

(١٠,٢,٣) معايرة الفيروسات البكتيرية Assay of bacterial viruses

(١٠,٢,٣,١) معايرة الروائق Plaque assay

وفي هذه الطريقة، تبذر Seeded البكتيريا الحساسة في الطور اللوغاريتمي في الآجار المغذي أو تزرع على سطح الآجار المغذي بعدئذ، تخلط معلقات من تخفيفات الفيروس في حجم ثابت (١,. مل، على سبيل المثال) مع ٢,٥ مل من الآجار الطري Soft agar (٠,٧٪) والذي يوزع بانتظام وبسرعة على وسط الآجار الأساسي المتصلب من قبل.

وعقب استقرار هذه الطبقة المغطية Overlay، تحضن أطباق بتري عند درجة حرارة مناسبة. وخلال ١٢ ساعة (ليلة) أو ٢٤ ساعة، تظهر مناطق رائقة شفافة زجاجية من الروائق Plaques على خلفية معتمة معكرة من الفرشة (حصيرة lawn) البكتيرية. وتعد هذه التقنية سهلة ومنتجة بالنسبة لفيروسات البكتيريا والأكتينومايسيتات (Actinophages) ولفيروسات الطحالب Phycoviruses وفيروسات الطحالب الخضراء المزرقة (البكتيريا الزرقاء) Cyanophages.

(١٠,٢,٤) معايرة فيروسات الحشرات Assay of insect viruses

(١٠,٢,٤,١) المعايرة الكمية غير المحددة Quantal assay

وذلك بتغذية اليرقات على غذاء يحتوي على تخفيفات مختلفة من معلق الفيروس، أو أن ترش اليرقات، بتخفيفات من معلق الفيروس. بعدئذ، يمكن تحديد الجرعة التي تسبب إماتة خمسين في المائة LD_{50}.

(١٠,٢,٤,٢) معايرة الروائق Plaque assay

وقد طورت أخيرًا مزارع خلوية وخطوط خلوية من الحشرات ومن ثم، أصبحت متاحة لإجراء معايرة الروائق. وتعتمد هذه الطريقة أساسا، على نوع الفيروس ونوع الحشرة المستمدة منها المزارع الخلوية.

(١٠,٢,٥) معايرة عدوى الحامض النووي الفيروسي Assay of viral nucleic acid infectivity

يمكن أن تستخلص الحموض النووية من عدد من فيروسات مختلفة مثل فيروس تبرقش التبغ TMV وفيروس أدنو وشلل الأطفال وسنديس وبوليوما والفيروس المرتبط بأدنو Adeno - associated وفيروس لاكتيك ديهيدروجينيز. ويحصل على نتائج إيجابية، فقط، وبانتظام مع الفيروس الذي تتكون مورثاته (Genomes = مجينات) من جزيئات مفردة من الحامض النووي الذي لا تحتوي فيريوناته على إنزيم النسخ Tsanscriptase.

(١٠,٢,٦) معايرة خواص أخرى للفيروسات Assay of other properties of viruses

وهذه طرق تعتمد على بعض خواص الفيروس غير الإصابة:

(١٠,٢,٦,١) استخدام المجهر الإلكتروني في معايرة العد والتوصيف

Electron microscopy for count assay and characterization

يمكن أن يستخدم المجهر الإلكتروني في حصر أعداد الدقائق الفيروسية في تحضيرها، وهذه الطريقة الفيزيائية تحصي عدد الدقائق الفيروسية بغض النظر عن قدرتها على إحداث الإصابة من عدمه.

ولإجراء الفحص بالمجهر الإلكتروني النقال Transmission electron microscope، توضع العينة، سواء على شكل خام نقية أو شبه نقية، على صفيحة غربالية من النحاس Copper grid مغطاة بغشاء Film مدعم من الكربون أو الفورمفار Formvar. ولأن الفيروسات شفافة بالنسبة لحزمة الإلكترونات، فإنها تخلط مع محلول

من أملاح المعادن الثقيلة مثل ٢٪ فوسفوتنجستات البوتاسيوم Potassium (KPTA) phosphotungstate أو ١٪ خلات يورانيل Uranyl acetate أو أي مادة مشابهة. ومن ثم، فإن الدقائق الفيروسية تظهر كتراكيب واضحة على حقل مظلم. وهذا ما يسمى الصبغ السالب Negative staining. وفي كل الأحوال التي يزاد فيها عدد الدقائق الفيروسية، يمكن إحصاء ذلك بعمل حصر للأعداد في مجالات Fields متعددة ويحسب متوسطها بالنسبة للتخفيف والتركيز الأصلي، كما يستفاد من ذلك للتأكد من أن هذا الفيروس بشكله وأبعاده هو الفيروس محل الدراسة وأنه ليس مختلطًا بغيره، كما يمكن، أيضًا، معرفة الدقائق الفيروسية الكاملة من تلك الفارغة.

(٢,٦,٢,١٠) المعايرة بالتلزن الدموي Haemagglutination assay

تستخدم هذه الطريقة مع الفيروسات التي تسبب تلزنًا دمويًا مثل فيروسات الإنفلونزا والحصبة والغدة النكفية ونيوكاسل وغيرها. وتكون هذه الفيروسات مع خلايا الدم الحمراء RBC's تجميعات Aggregates يمكن الكشف عنها بوساطة نمط تكوينها. وفي هذه الحالة، فإن معلق الفيروس المخلوط مع خلايا الدم الحمراء يبقى لبضع ساعات دون هز في أنابيب الاختبار أو الأطباق البلاستيك المقسمة إلى عيون أو آبار مستديرة القاع. فالخلايا غير المتجمعة ترسب في القاع المستدير وتلتف على نفسها نحو المركز، إذ تكون راسبًا قرصيًا صغيرًا محدد الحواف بشدة ويشبه الزِّر Button. وفي وجود الفيروس المتشابك مع خلايا الدم الحمراء في صورة شبكة Lattice = netform، فإنها ترسب، أيضا، للقاع لكنها لا تلتف حول نفسها، وتظل كشبكة من غشاء رقيق يكون متميزًا بوجود حواف منشارية Serrated edges. ويمكن عمل تقدير كمي لنسبة الخلايا المتجمعة بوساطة جهاز مقياس الضوء الطيفي Spectrophotometer.

وكما أن المعايرة عادة ما تتم بعمل تخفيفات ثنائية القوة Two - fold dilutions، فإن كل تخفيف يخلط بمقدار مقنن من خلايا الدم الحمراء (عادة $١٠^{٧}$ خلية / مل). كما

أن التخفيف الأخير الذي يظهر تلزنًا دمويًا كاملاً هو الذي يؤخذ على أنه نقطة النهاية End point. ويعبر عن العيار Titer بوحدات التلزن الدموي(HAU) Haemagglutination units والتي هي مقلوب التخفيف الأخير الذي أحدث تلزنًا دمويًا.

(١٠,٢,٦,٣) المعايرة بتثبيط التلزن الدموي (HI) Haemagglution inhibition assay

وفي هذه المعايرة، يمكن قياس كمية الفيروس أو الأنتيجينات، وذلك بعد معادلة التلزن الدموي الذي تحدثه بوساطة الأجسام المضادة النوعية للفيروس أو الأنتيجين ومن ثم، تحجب مقدرته على إحداث التلزن الدموي.

كما يمكن أن تستخدم هذه الطريقة لقياس كمية الأجسام المضادة الموجودة في مصل المريض. ويجرى اختبار تثبيط التلزن الدموي (HI) بنفس طريقة اختبار التلزن الدموي، فيما عدا أننا نضيف كمية ثابتة من الفيروس (أو الأنتيجين) إلى تخفيفات ثنائية القوة من المصل المراد تقدير عياريته أو العكس. إذ نضيف كمية ثابتة من الأنتيجين إلى أن نحصل على آخر تخفيف يثبط التلزن الدموي، فيكون مقلوبه عبارة عن عيارية المصل المضاد أو الفيروس.

(١٠,٢,٦,٤) المعايرة بتثبيت المكمل (العامل المتمم) Complement fixation assay

يستخدم اختبار تثبيت العامل المتمم Complement fixation test (CFT) إما معايرة للفيروس، أو اختبارًا مصليًا تشخيصيًا لتعريف عزلة الفيروس أو إثبات وجود أجسام مضادة مثبتة للجسم المضاد في أمصال المرضى. وينبني الاختبار على حقيقة أنه عندما يحدث تفاعل بين الأنتيجين (الفيروس) وبين الجسم المضاد، فإنه يكون معقدًا من الأنتيجين - الجسم المضاد Antigen-antibody complex، والذي يتفاعل، بالتالي، مع العامل المتمم، ويكون معقدًا من الأنتيجين + الجسم المضاد + العامل المتمم. وهنا يطلق على الجسم المضاد أنه قد ثبت "Fixed" العامل المتمم، أي إستخدمه. ويوجد العامل المتمم كمكون بروتيني في جسم الإنسان وحيوانات عديدة، وهو يتأثر بالحرارة

Labile. ومن الجدير بالذكر أن الفيروسات تعد أنتيجينات جيدة في تثبيت العامل المتمم. ويجري الاختبار على مرحلتين:

(أ) **المرحلة الأولى:** تجرى تخفيفات ثنائية القوة لمصل المرضى، ثم تخلط مع كمية ثابتة من الفيروس وكمية ثابتة من العامل المتمم (يستخدم مصل خنازير غينيا) ويترك عند درجة حرارة ٤° م لمدة ليلة.

(ب) **المرحلة الثانية:** وهي النظام الكشاف Indicator system الذي يحدد وجودًا أو غيابًا (= تثبيت Fixation) العامل المتمم. ويتكون الكشاف من خلايا الدم الحمراء للغنم المحسسة Sensitized Sheep RBC's بوساطة المحلل الدموي (الهيموليسين) Haemolysin، وهو أجسام مضادة ضد خلايا الدم الحمراء للغنم Anti sheep RBC's معمولة (Raised) في حيوان آخر كالأرنب على سبيل المثال. وفي وجود العامل المتمم حرًّا في وسط التفاعل يتحد مع الهيموليسين ويسبب تحللاً دمويًّا لخلايا الدم الحمراء للغنم، أما إذا كان العامل المتمم قد ثبت في المرحلة الأولى فإنه لا يستطيع تحليل خلايا الدم الحمراء التي تبقى سليمة وترسب في القاع. إذن، ففي وجود الفيروس والجسم المضاد الخاص به اللذين يقومان بتثبيت العامل المتمم، تبقى خلايا الدم الحمراء للغنم سليمة ويبقى المحلول شفافًا أي أنه قد حدث تثبيت للعامل المتمم وأن الاختبار موجب.

أما إذا حدث ظهور لون أحمر من الهيموجلوبين المتحرر من خلايا الدم الحمراء للغنم فهذا يدل إما على عدم وجود فيروس وإما عدم وجود أجسام مضادة له، ومن ثم، لم يتثبت العامل المتمم الذي ظل حرًّا فكون مع الهيموليسين (الجسم المضاد لخلايا الدم الحمراء للغنم) المرتبط بأنتيجينات خلايا الدم الحمراء للغنم معقدًا (أنتيجين + جسم مضاد + عامل متمم)، ومن ثم، يؤثر هذا المعقد على غشاء خلايا الدم الحمراء للغنم فتتحلل ويتسرب منها الهيموجلوبين الذي يخضب وسط التفاعل بلون الهيموجلوبين الأحمر. إذن، فوجود لون أحمر دموي يعني أن تفاعل تثبيت العامل المتمم سالب لعدم وجود الفيروس أو لعدم وجود الأنتيجين موضع السؤال أو التأكيد. وهذا الاختبار، علاوة على أنه يعطي نتيجة موجبة أو سالبة، إلا أنه يمكن أن

يقيس كمية أو عيارية الجسم المضاد أو الفيروس عندما يصل إلى نقطة النهاية، أي عند آخر تخفيف لا يعطي اللون الأحمر ثم بعده يظهر اللون الأحمر ومن ثم، تكون العيارية هي مقلوب آخر تخفيف يظهر التحلل الدموي عنده.

(١٠,٢,٦,٥) اختبار التعادل Neutralization test

من المحتمل أن يكون هذا الاختبار أكثر الطرق حساسية لاختبار الجسم المضاد للفيروس، كما أنه يستخدم على نطاق واسع في المعامل الإكلينيكية. كما يعد الأساس في التصنيف المصلي Serological classification للفيروسات وللتنويع المصلي Serotyping. وفيه تخلط تخفيفات من المصل المضاد Antiserum (الأجسام المضادة ضد الفيروس) مع تركيز ثابت من الفيروس ويسمح للتفاعل بينهما أن يتم لفترة تتوقف على نوع الفيروس محل الدراسة. ثم تؤخذ عينات من هذه المخاليط بعد ذلك وتعاير بالنسبة لعدوى Infectivity الفيروس بواحدة من الطرق التي وصفت.

(١٠,٢,٦,٦) الوميض (اللصف) المناعي Immunoflourescence

يمكن أن تُعَلّم Tagged الأجسام المضادة للفيروس بصبغة وميضة (لاصفة) Fluorescent dye تومض عند التعرض لضوء الأشعة فوق البنفسجية (UV). ولهذه الطريقة القدرة على الكشف عن أنتيجينات الفيروس داخل الخلية المصابة، ومن ثم، فإنه يمكن تعقب Tracing تموضع أنتيجينات الفيروس. وتستعمل طريقتان أساسيتان: الوميض المناعي المباشر الذي يستخدم أجسامًا مضادة للفيروس معلمة بالمادة اللاصفة، والوميض المناعي غير المباشر الذي يطلق عليه، أحيانا، طريقة "السندويتش Sandwitch method والتي تختلف عن الطريقة السابقة في أن الجسم المضاد الضد فيروسي لا يكون مُعَلّمًا ولكنه معامل بمضادة جاما جلوبيولين الوميض Fluorescent antigamma globulin بعد تثبيته على الخلية المصابة بالفيروس. وللطريقة غير المباشرة ميزة في حساسيتها الشديدة جدًا وخاصة في معامل الفيروسات التشخيصية التي تحتاج لكاشف واحد مُعلّم.

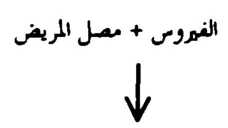
(١٠,٢,٦,٧) المعايرة المناعية الإشعاعية Radioimmunoassay (RIA)

يمكن شبك اليود المشع Radioactive iodine I^{125} بسهولة من أطراف الحامض الأميني تيروسين Tyrosine الموجود بالبروتين. وقد استخدمت هذه الخاصية في تطوير طريقة حساسة جدًّا للمعايرة المناعية الإشعاعية. وتعد طريقة التعقب الذاتي الإشعاعي Autoradiography للخلايا المشعة أنتيجيناتها باليود المشع I^{125} حساسة أكثر من ألف مرة من الطرق الوميضة. كما يمكن أن تستخدم الطريقة، أيضًا، في التقدير الكمي للجسم المضاد النوعي أو للأنتيجين النوعي في المحاليل باستخدام الفصل الاستشرابي الجاذب Affinity chromatography أو بترسيب معقدات الأنتيجين - الجسم المضاد، ومن ثم، تقاس كمية النشاط الإشعاعي Radioactivity بوساطة العد في جهاز مقياس طيفي إشعاعي Scintillator spectrometer، أو عداد جاما Gamma counter.

(١٠,٢,٦,٨) معايرة الإنزيم المرتبط والمدمص مناعيًّا (إليزا)
Enzyme - linked immunosorbent Assay (ELISA)

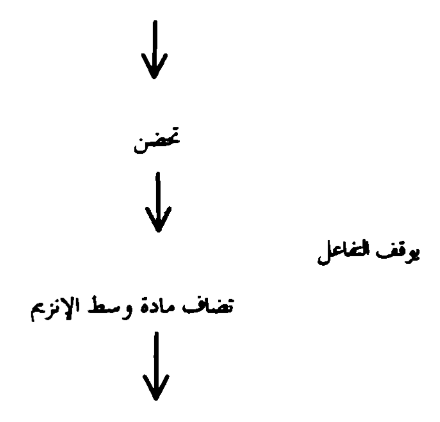
تعد هذه التقنية من أعظم التقنيات التي إكتشفت في السنوات الأخيرة والتي أصبحت مهمة جدًّا في مجال علم الفيروسات وغيره. وهي طريقة تطبق مفهوم تعليم أو ترقيم Tagging المكونات التي يسهل الكشف عنها سواء الأنتيجينات أو الأجسام المضادة، ولكنها امتدت لتشتمل، أيضًا، على تعليم الإنزيمات. فعلى سبيل المثال، يمكن أن يرتبط إنزيم الفوسفاتيز القاعدي Alkaline phosphatase أو بيروكسيديز فجل الحصان Horse radish peroxidase تساهميًّا Covalently linked إلى الجلوبيولين المناعي (= الجسم المضاد). كما أن وجود جسم مضاد مثبت بالإنزيم يمكن الكشف عنه لونيًّا Colourimetrically عن طريق تفاعل الإنزيم المشبوك بالنظام مع مادة وسط الإنزيم Substrate التي يتفاعل معها الإنزيم نوعيًّا. ولهذه الطريقة نفع عظيم في التشخيص السريع والدقيق للفيروسات. ويمكن أن يجرى هذا الإختبار على أقراص من ورق الترشيح أو في صوانٍ مقسمة إلى عيون تعطي لونًا إذا كان التفاعل إيجابيًّا. كما تعد هذه

الطريقة سريعة وسهلة في تشخيص الإصابات الفيروسية خارج المعمل وخاصة أثناء الوبائيات Epidemics. وفي هذه الطريقة، يمكن الكشف إما عن أنتيجينات الفيروس (أو الفيروس) وإما عن الأجسام المضادة لمرض فيروسي في دم المرضى.



يضاف إلى الإنزيم المعلم بالمصل المضاد للجلوبيولين المناعي البشري – م

Add enzyme – labelled anti human IgM antiserum



يقاس التفاعل بوساطة كثافة اللون في جهاز قراءة الكثافة الضوئية

وتكون النتيجة إما موجبة فتعطي لونًا وإما سالبة فلا تعطي لونًا مقارنة بالتجربة الضابطة Control. والكاشف اللوني في حالة إنزيم الفوسفاتيز القاعدي هو بارانيتروفينيل فوسفات P - nitrophenyl phosphate. أما في حالة إنزيم البيروكسيديز فهو أورثو فينيل ثنائي الأمين Ortho-phenyldiamine. كما يلاحظ، أيضًا، أن شبك الجسم المضاد مع البيوتين Biotin أو مادة وسط الإنزيم مع أفيدين Avidin أو

ستربتافيدين Streptavidin يزيد كثيرًا من الإرتباط، ومن ثم، من حساسية المعايرة. ومن أحد عيوب إليزا، على الأقل في الوقت الراهن، أنه لا يمكن معايرة الجسم المضاد بوساطتها.

(١٠,٢,٦,٩) التحلل الدموي المناعي القطري Radioimmune haemolysis

وهو اختبار وصفي للكشف عن الجسم المضاد - وليس للمعايرة - بالنسبة للفيروسات الملزنة دمويًا.

ويستخدم على نطاق واسع اختبار غربلة Screen test للمناعة ضد فيروس الحصبة الألمانية Rubella. ويخلط الفيروس وخلايا الدم الحمراء في طبق يحتوي على هلام الآجار مع إضافة العامل المتمم. وتضاف أمصال المرضى للعيون المحفورة في الآجار. إذا كان الجسم المضاد موجودًا، فإن مناطق التحلل الدموي Haemolysis تظهر حول العيون بعد التحضين في صورة حلقية قطرية حول العيون.

(١٠,٢,٦,١٠) الانتشار المناعي Immunodiffusion

عندما تلتقي الأنتيجينات والأجسام المضادة خلال الجل (الآجار) فإنها تكون رواسب من معقدات الأنتيجين - الجسم المضاد في صورة خط حاد. وتعد الطريقة ذات فائدة خاصة في الكشف عن وجود الأنتيجينات المتعددة للفيروسات، وكذلك للعلاقات الأنتيجينية بين مختلف الفيروسات. وينبني الفصل (الرحلان) الكهربائي المناعي Immunoelectrophoresis على القاعدة نفسها لكنه أكثر سرعة ودقة.

(١٠,٢,٦,١١) التنويع بالفصل الكهربائي Electrophorotyping

يمكن أن يجري فصل (رحلان) كهربائي Electrophoresis للحموض النووية للمورث (المجين Genome) خاصة المورثات المجزأة التي يمكن فصلها من خلال هلام عديد الأكريلامايد Polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE). وتكون النتيجة هي توزيع قطع الحامض النووي على حسب حجمها من القمة للقاع. نظرًا إلى أن حجم

قطع الحامض النووي تتباين بين مختلف السلالات الفيروسية، فإن لنوع الرحلان الكهربائي Electropherotype قيمة في دراسات التعرف والدراسات الوبائية للفيروسات.

(١٠,٢,٦,١٢) البصمات Fingerprinting

تستخدم بصمات ح ن ر RNA Fingerprinting لمقارنة الفيروسات ح ن ر مفردة الخيط ss RNA والتعرف على النوع الجيني للمتباينات Genotypic variants. وتتضمن هذه التقنية تشعيع ح ن ر الفيروسي بنظير مشع Radioisotope، ثم الهضم بإنزيم محلل الحامض النووي الريبوزي Ribonuclease، ثم التحليل عن طريق الرحلان الكهربائي على الجل ثنائي - الاتجاه Two-dimensional gel electrophoresis. أما بالنسبة لفيروسات ح ن د DNA viruses فإن نوعًا مختلفًا من "البصمة" يمكن الحصول عليه عن طريق إستخدام الإنزيمات النووية التحديدية الداخلية Restriction endonucleases. وتتعرف هذه الإنزيمات على تتابعات نوعية من القواعد داخل ح ن د وتشطره إلى قطع يمكن، بعدئذ، فصلها بالرحلان الكهربائي على هلام الأجاروز Agarose gel electrophoresis. وباستخدام هذه التقنية، يمكن الكشف عن المتباينات الفيروسية Virus variants.

(١٠,٢,٦,١٣) الفصل (الرحلان) الكهربائي للبروتينات Protein gel electrophoresis

وبهذه الطريقة، يمكن فصل البروتينات الفيروسية المذابة Solubilized viral proteins على هلام عديد الأكريلامايد (PAGE) تبعًا لحجمها ووزنها الجزيئي.

(١٠,٢,٦,١٤) الشف الغربي Western blot

هذه تقنية مفيدة وامتداد الفصل (الرحلان) الكهربائي للبروتينات، وتتضمن عمل تفاعل بين البروتينات المفصولة مع المصل المضاد Antiserum للفيروس محل الفحص. ويتم ذلك عن طريق الشف أو الطبع مثل ورق النشاف؛ فعند حدوث تفاعل بين

البروتين (بروتين P 24 لفيروس الأيدز، على سبيل المثال) مع المصل المضاد من مريض بالأيدز؛ فإن ناتج التفاعل على البروتين المشفوف هو إعطاء تفاعل لوني بناء على نوع الصبغة الموضوعة في التفاعل.

(١٠,٢,٦,١٥) مجسات الحامض النووي والتهجين الجزيئي

Nucleic acid probes and molecular hybridization

وتستخدم هذه التقنية للكشف عن الحامض النووي الفيروسي بوساطة التهجين في وجود مجسات Probes مشععة من ح ن د (DNA). إذ يهجن مجس على شكل خيط مفرد من ح ن د (DNA) مُعَلّم بمواد إشعاعية Radio-labelled أو معلم بالبيوتين Biotin-labeled مع الحامض النووي الفيروسي موضع الاختبار. والحامض النووي الفيروسي الأخير قد يكون موجودًا في خلية مصابة من العائل أو في خلايا مصابة من مزرعة خلوية أو من أجنة دجاج أو من الحيوانات التجريبية التي عزل منها الفيروس. كما يمكن أن تستخدم، أيضًا، مستخلصات Extracts من أنسجة مصابة. ويعد هذا الاختبار مفيدًا بصفة خاصة لعدد من المشكلات التشخيصية كالتفريق بين فيروسات اللقاح المضعفة ذات القرابة المصلية وبين السلالات الطبيعية (أو ا لحقلية) الشرسة. ويمكن أن تحسن حساسية الاختبار للتشخيص باستخدام تفاعل سلسلة إنزيم البلمرة PCR والتي تضخم Amplifies الحامض النووي الفيروسي في العينة.

(١٠,٢,٦,١٦) تفاعل سلسلة إنزيم البلمرة Polymerase Chain Reaction (PCR)

وهي طريقة حديثة نسبيًّا تستخدم لتضخيم Amplification الجين. وتضخم الجينات عادة إلى نحو بليون نسخة من تتابعات ح ن د الأصلية. ثم يتبع هذا باستخدام مجسات Probes معروفة للحامض النووي والتي تستخدم في تفاعلات التهجين. وتعد الطريقة مفيدة في التعرف على العوامل الفيروسية في العينات الإكلينيكية أو تلك التي توجد بكميات قليلة جدًّا يصعب الكشف عنها أو زراعتها مثل فيروس الالتهاب الكبدي

ج Hepatitis virus C وغيره. كما يفيد، أيضًا، في حالة الفيروسات التي لا تتكاثر بالمعمل. ويتطلب التفاعل بادئات Primers نوعية بالنسبة للحامض النووي الفيروسي المشتبه فيه.

(١٠,٢,٦,١٧) إنزيم تكاثر كيوبيتا Q β Replicase

وتشمل هذه التقنية تضخيم الجين باستخدام إنزيم تكاثر مستخلص من نظام لاقم البكتيريا كيو بيتا Q - β bacteriophage system الذي ينبني على أساس تصنيع ح ن ر الموجه بإنزيم تكاثر ح ن ر - RNA-directed RNA polymerase. وباستخدام هذا النظام، فإنه يتطلب وجود تتابعات طويلة نوعية من المجسات، مقارنة بتفاعل سلسلةإنزيم البلمرة PCR، لدفع التفاعل. وينتج عن ذلك تضخيم غير نوعي أقل ونتائج أسرع.

الفصل الحادي عشر

آليات الدفاع ضد الفيروسات

Defence Mechanisms Against Viruses

(١١,١) آليات الدفاع ضد الفيروسات

Defence Mechanisms Against Viruses

تمتلك معظم الحيوانات والإنسان أنواعًا مختلفة من الآليات الدفاعية المناعية Immune defence mechanisms ضد الهجوم من الفيروسات.

ويزود الإنسان والحيوانات بحواجز Barriers طبيعية وخطوط دفاع من شأنها أن تعوق غزو الفيروسات وتمنعه وتحطمه. ويعزز Fortified ذلك كله أخيرًا بأقوى خط دفاعي، والذي يسمى الجهاز المناعي The immune system، وتشمل آليات الدفاع مايلي:

(١١,١,١) المناعة الأصلية (الطبيعية) Innate (natural) immunity

وهي مناعة توجد كتكوينات طبيعية دون أن تكون وظيفتها الأساسية هي صد الميكروبات، وهي مناعة غير متخصصة وغير نوعية، ومنها:

(١١,١,١,١) آليات الحواجز Barrier mechanisms

مثل طبقات الجلد والدموع واللعاب والعرق والعصير المعدي، والإفرازات المهبلية، والأهداب والطبقات المخاطية وكلها تشكل خطوط الدفاع الأولى ضد الغزو الفيروسي كما هو الحال ضد أنواع الميكروبات الأخرى دون تدقيق أو تمييز أو تعرف أو ذاكرة.

(١١,١,١,٢) البلعمة (الالتقام) Phagcytosis

بعد أن يتخطى الفيروس خط دفاع نظم الحواجز الطبيعية، تأتي، بعد ذلك، المناعة غير النوعية Non-specific immunity التي تقوم بها أنواع مختلفة من خلايا الدم البيضاء White blood cells التي تقوم بابتلاع Engulfing الفيروسات الغازية وهضمها في عملية تعرف بالبلعمة أو الالتقام Phagocytosis. وأنواع معينة من هذه الخلايا البيضاء الملتقمة تكون على شكل خلايا كاسحة (كانسة) Scavenger، جاهزة لأن تأكل أي مادة غريبة. ومع ذلك، فإن العديد من هذه الخلايا تؤدي وظائف أخرى غير الابتلاع.

ولا يقتصر الابتلاع على مجرى الدم، فقط، إذ تستطيع الخلايا البلعمية أن تمر من الأوعية الدموية إلى الجهاز الليمفاوي، ثم تعود مرة أخرى للدم. لذا، فإنه في أي وقت يحدث فيه غزو من أي فيروس، سوف يجد في انتظاره خلايا بلعمية لتقوم مبكرًا بفعالية شديدة جدًا، بدورها الابتلاعي تحديًا للإصابة.

ويعد دور البلاعم سائدًا خاصة في الساعات المبكرة من الإصابة. وتطوريًا، فإن البلعمة تعد واحدة من أكثر الوسائل المناعية بدائية خاصة بالنسبة للكائنات عديدة الخلايا (لاحظ أنها أكثر شيء فعال للكائنات وحيدة الخلية مثل الأميبا!).

(١١,١,١,٣) الخلايا القاتلة الطبيعية Natural killer cells (N.K.)

الخلايا القاتلة الطبيعية هي نوع من خلايا الدم البيضاء. وتقتل الخلايا القاتلة الطبيعية الخلايا المصابة بالفيروس. وتعني كلمة (طبيعية) أنها تكون خلايا فعالة وعقب حدوث الإصابة ضد مدى مختلف من الإصابات. وهذا يميزها عن الخلايا النوعية ذات الاستجابة المناعية النوعية المحددة، والتي يلزمها أولاً أن تنشط Activated بارتباطها مع الفيروسات بوساطة مستقبلات Receptors على سطح الخلية ومن ترانسفيرين Transferrin. ومما تجدر الإشارة إليه أن الخلية القاتلة الطبيعية لا تقتل الفيروسات الحرة فحسب، بل تقتل، أيضًا، الخلايا السرطانية. إذ أنه بعد ارتباطها بالخلية الهدف تنتج جزيئات سامة تقتل الخلية المصابة بالفيروس. وفي تجربة استنزفت فيها Depletion الخلايا

القاتلة من الفئران بحقنها بأجسام مضادة ضد الخلايا القاتلة. وعند حقن هذه الفئران بفيروس مضخم الخلايا الفئراني، كانت الإصابة في الفئران المستنزفة خلاياها القاتلة أشد من العادية، لذا، فإن الخلايا القاتلة، طبيعيًّا، تكون أول خط دفاع ضد الفيروس من قبل أن تتولد المناعة المكتسبة. وتزداد أعداد الخلايا القاتلة طبيعيًّا بالإنترفيرونات.

(١١,١,١,٤) الانترفيرون (الممانع) Interferon

يطلق اسم انترفيرون على أنواع من البروتينات تحتوي على مجموعة من الكربوهيدرات ضرورية لنشاطها، أي أنها بروتينات سكرية (Glycoproteins). ويُخلَّق الممانع بوساطة الخلايا المناعية أو العادية للجسم عقب عملية عدوى بالفيروس. ويفرز الانترفيرون، عندئذ، من الخلايا المصابة، والذي، بالتالي، يرتبط بسطح الخلايا المجاورة العادية. وهذا الارتباط للانترفيرون بالخلية يحولها، بالتالي، إلى حالة تضاد فيروسي Antiviral state. ومن ثم، فإن إنتاج الإنترفيرون وتحريره يسمح لإصابة خلية واحدة أن تعطي الحماية ضد الإصابة للعديد من الخلايا المجاورة.

ومن الإشارات الأساسية التي تحفز خلية مصابة لصنع الإنترفيرون يبدو أنها تكون نتيجة لوجود ح ن ر - مزدوج الخيط d.s-RNA فيروسي يتكون أثناء دورة تكاثر الفيروسات ذات ح ن ر (RNA). أو عن طريق طي ح ن ر الرسول - mRNA على نفسه في حالة فيروسات ح ن د. بناء عليه، فإن معلومات وراثية من موروثة (جين) في الخلية المصابة ينطلق Triggered مشفرًا Coding لإعطاء إنترفيرون (IF). وبمجرد أن يتحرر الانترفيرون من الخلية المصابة، فإنه يحفز الخلايا المجاورة على أن تصنع بروتينات تكون مسئولة مباشرة عن تولد حالة التضاد الفيروسي Antiviral state. وتعمل هذه الانترفيرونات الفيروسية الطبيعية بالتداخل مع تخليق البروتين الفيروسي.

وقد تم استجلاء العديد من المحاولات التجريبية والإكلينيكية للنشاطات الفيروسية ضد الانترفيرون (INF)، وكذلك في علاج السرطان Cancer therapy، أيضًا. وقد يعود فعل الانترفيرون كمضاد للسرطان، نتيجة لتأثيره على تنظيمه Regulation لخلايا الجهاز المناعي الأخرى.

وعند التعرض لأي فيروس، فإن الانترفيرون يكون آخر ما ينشط من آليات الدفاع غير المتخصصة الأساسية. ويعقب إنتاج الانترفيرون ببضعة ساعات أو أيام تحفز آليات الجهاز المناعي Stimulation of immune system. والانترقيرون الذي ينتج بوساطة فيروس معين يثبط Inactivates كل الفيروسات الأخرى، ولكنه نوعي Specific، فقط، للعائل الذي أنتجه. ويعني هذا أن الإنترفيرون المنتج في الإنسان يعمل، فقط، في الإنسان، وكذلك، فإن الإنترفيرون الذي ينتج في الفئران يعمل على الفئران، فقط. بناءً عليه، فإنه متخصص بالنسبة للعائل ولكنه غير متخصص لفيروس بعينه، وإنما يعمل ضد كل الفيروسات.

وفي الإنسان والحيوانات، يوجد نوعان من الإنترفيرونات (INF)، نوع-١ ويتكون من إنترفيرون. ألفا (IFN - ∝) ونوع إنترفيرون بيتا (β- INF)اللذين ينتجان بوساطة خلايا الدم السطحي وحيدة شكل النواة Mononuclear والخلايا الليمفاوية على الترتيب. أما نوع -٢ وهو إنترفيرون جاما (INF- γ)فهو عبارة عن ليمفوكين Lymphokine ينتج استجابة لإشارة أنتيجينية نوعية. ويوجد جين واحد لكل من إنترفيرون بيتا وجاما، ولكن لإنترفيرون ألفا ما لا يقل عن ٢٣ جينًا تكون متكتلة على كروموسوم رقم ٩، وتكون قريبة من جين بيتا. ويوجد جين جاما على كروموسوم رقم١٢. ويحفز تخليق الإنترفيرون الفيروسات وبعض البكتيريا داخلية التطفل، وأقوى مستحث هو ح ن ر مزدوج الخيط d.s.RNA. ويظهر النشاط ضد الفيروسي للإنترفيرون عند تحرره من الخلايا المصابة بالفيروس ليتصل بمستقبلات على سطح الخلايا المجاورة ليستحث فيها تكوين بروتينات ضد فيروسية.

وعلى هذا، فإن إنتاج الإنترفيرون في الإنسان لعلاج الإنسان يُعَدُّ عملاً صعباً ومكلفًا ومحاطًا بمحاذير كثيرة. وشكرًا للهندسة الوراثية Genetic engineering التي سهلت إدخال موروثة Gene الإنترفيرون من الإنسان في الآلة الوراثية للبكتيريا القولونية *Escherichia coli* أو خلية الخميرة للإنتاج الضخم Mass production. للانترفيرون. وقد استطاع العلماء اليابانيون عام ١٩٨٧م إنتاج ما يسمى سومنيفيرون

Somniferon والذي هو إنترفيرون نشيط ضد سرطانات نخاع العظام والكُلى. فقد أخذت موروثة الممانع من نخاع العظام وضمنت داخل خلية البكتيريا القولونية.

ويوجد نوعان من الانترفيرون: نوع تنتجه أية خلايا جسدية في الجسم ويطلق عليه نوع(١). أما النوع الثاني فتنتجه خلايا - ت المناعية وهو نوع من الليمفوكينات Lymphokines. ويطلق عليه اسم انترفيرون جاما Interferon -γ .

(١١,١,١,٥) الآليات المناعية المتخصصة The specific immune mechanisms

تعد الاستجابة المناعية ضد الفيروسات، والميكروبات الأخرى والانتيجينات الغريبة Foreign antigens، أقوى آلية دفاع وأكثرها فعالية. وهذه الاستجابة المناعية ماهي إلا وظيفة الجهاز المناعي Immune system توجد في الجهاز الليمفاوي Lymphatic system. وأهم خلايا الجهاز المناعي هي الخلايا الليمفاوية Lymphocytes التي تتمايز Differentiate عندما تصبح ناضجة Mature إلى نوعين من الخلايا المناعية: الخلايا التائية(ت) T-Cells والخلايا البائية(ب) B-Cells. وتعد خلايا - ت أهم الخلايا الليمفاوية، وهي تعتمد في نضجها على غدة الثيموس Thymus gland. بينما تنضج الخلايا الليمفاوية، - ب في نخاع العظام Bone-marrow. وكلا النوعين من الخلايا يؤديان الدور الأعظم في الاستجابات المناعية Immune responses وفي المناعة النوعية المكتسبة Acquired specific immunity.

(أ) خلايا — ت T - cells:

تأتي خلايا - ت كأول عنصر حقيقي من آليات الدفاع ضد الاصابات الفيروسية Antiviral response. فعندما تنجح الفيروسات الغازية في الدخول للجسم، بعد هزيمة آليات الدفاع غير النوعية، فإنها تصبح مرتبطة Bound بمستقبلات Receptors بروتينية شديدة النوعية على سطح خلايا -ت الليمفاوية (الخلايا الناضجة تسمى ليمفوبلاست Lymphoblast). وتوجد أعداد كبيرة من خلايا -ت داخل جسم الإنسان

أو الحيوان (نحو ٦٥ - ٨٠٪ من العدد الكلي للخلايا الليمفاوية الدوارة في سائل الدم). ويوجد من خلايا - ت أنواع وتحت أنواع لكل وظيفته الخاصة المحددة. وتحمل خلايا -ت مستقبلات نوعية يمكنها أن ترتبط بتشكيلات Configurations محددة من الأجسام الغريبة (= الأنتيجين كالفيروس، على سبيل المثال). ويمكن أن ترتبط كل خلية -ت إما إلى جسم غريب واحد محدد بعينه، وإما ربما إلى مجموعة صغيرة من الأجسام الغريبة المتشابهة جدًا. وتعد الأجسام الغريبة الفيروسية هي تلك التراكيب الفيروسية المعرضة خارجيًا Externally exposed على سطح الفيروس الخارجي والتي قد تتكون من البروتين Protein، أو البروتين الدهني Lipoprotein أو البروتين السكري Glycoprotein، والموجود غالبًا إما على الغطاء Capsid الفيروسي، وإما على الزوائد والأشواك Peplomers and spikes الخارجة من غلاف الفيروس المغلف. وعادة ماتقدم presented الفيروسات إلى خلايا -ت من خلال البلاعم الكبيرة Macrophages. ويهذا، فإن ارتباط الفيروس بخلية - ت ينشطها إلى سلسلة من الانقسامات الخلوية، ويكون ناتج خلفة Progeny خلية - ت فعالاً إما أن يقتل، مباشرةً، الخلايا المصابة بالفيروس، وإما أن يقوي Enhances بطريق غير مباشر الاستجابة المناعية الكلية Overall ضد الفيروس. وعندما تهاجم الخلايا المصابة بالفيروس مباشرة، فإن خلايا - ت تفرز عاملاً قاتلاً للخلية Cytotoxic factor والذي يحدث اضطرابا Disrupts في غشاء الخلية. ومن ثم، تقتل الخلية. ومن بين التأثيرات غير المباشرة، تحرير بروتينات مثل الانترفيرون وغيرها التي تجتذب الخلايا البلعمية وغيرها من خلايا الدم البيضاء مسببة بالطبع التهابًا Inflammation، ويؤدي هذا الالتهاب إلى زيادة دوران الدم والخلايا الليمفاوية مما يؤدي إلى تضخيم مختلف الدفاعات التي يحملها الدم Blood - borne defences وتدعيمها. إضافة لذلك، فإن التأثير غير المباشر من خلايا - ت المنشَّطة Activated يساعد في إطلاق Switch on الطور الثاني Second stage من الدفاعات المناعية النوعية لخلايا - ت الليمفاوية أو أنها تعطي إشارة لخلايا - ب لتصنع أجسامًا مضادة Antibodies.

(ب) خلايا – ب والأجسام المضادة B - cells and antibodies

تشارك خلايا - ب في العديد من الخواص مع خلايا - ت، فضلاً عن ذلك، فإنها تحمل مستقبلات Receptors خاصة بها يمكنها أن تتعرف Recognize بها وترتبط Bind مع الأنتيجينات Antigens المختلفة ومنها الفيروسية. كما أن ارتباط الأنتيجين بخلايا - ب يقوم، أيضًا، بتنشيطها للتكاثر، ولكي تعمل على إزالة ذلك الأنتيجين. بينما تزيل خلايا - ت الأنتيجينات منها عن طريق تحرير بروتينات تنشط الدفاعات الأخرى، فإن خلايا - ب تعمل لتحرير البروتينات المشهورة والمسماة بالأجسام المضادة Antibodies أو الجلوبيولينات المناعية .Ig`s. والأجسام المضادة بروتينات مناعية Immunoglobulins يمكنها أن ترتبط بتخصصية عالية بالأنتيجينات التي كانت السبب في استحثاث تخليقها. وعندما ترتبط الأجسام المضادة مع الأنتيجينات الفيروسية فإنها يمكن أن تساعد على إزالة الفيروس بطرق مختلفة.

فيمكن أن ترتبط الأجسام المضادة، ببساطة، بسطح الفيروسات الحرة، ويمكن لارتباط الأجسام المضادة هذا، أن يعادل Neutarilize الفيروس عن طريق قفل المواضع من الفيروس التي يجب أن تكون حرة لترتبط بجزيئات المستقبلات الموجودة على سطح خلية العائل. ومن بين الدفاعات الوسيطة بالأجسام المضادة - Antibody mediated بلعمة Pagocytosis الأجسام المضادة المرتبطة بالفيروس وذلك بوساطة أغشية البلاعم الكبيرة Macrophages. أما الآلية التالية للدفاعات الوسيطة بالأجسام المضادة فهي تشمل إحداث خلل Disruption للأغشية المحتوية إما على الفيروسات الكاملة، أو على الأنتيجينات الفيروسية التي يمكن أن ترتبط بها الأجسام المضادة. وتحمل غالب الخلايا المصابة البروتينات الفيروسية على أغشيتها، ويمكن للأجسام المضادة أن ترتبط بهذه البروتينات لتسبب موت الخلايا المصابة بطريقتين:

أولاً: يمكن لمختلف أنواع خلايا الدم البيضاء أن ترتبط بالنهايات الطرفية للأجسام المضادة وتحرر مواد كيميائية من شأنها أن تخلخل Disruption الغشاء وتقتل الخلايا.

ثانيًا: إن ارتباط الأجسام المضادة بالأنتيجينات ينشط سلسلة من الإنزيمات الموجودة بالدم - Blood borne enzymes التي تسمى، شموليًّا، Collectively جهاز "العامل المتمم" Complement system. والذي يمكنه، بالتالي، أن يخلخل أغشية الخلايا المصابة بالفيروس. ويمكن، أيضًا، لهذه القدرة على تنشيط جهاز العامل المتمم أن تعمل على تحطيم الأغشية المحيطة بالفيروسات المغلفة Membranes surrounding enveloped Viruses، كما أن هناك تأثرًا مهمًّا لجهاز العامل المتمم ألا وهو إنتاج الالتهاب الذي سبق ذكره.

وتعرف المناعة النوعية المتخصصة من خلال إنتاج الأجسام المضادة بوساطة خلايا - ب - بالمناعة الخلطية Humoral immunity (السائلية)، وذلك لوجود الأجسام المضادة في سوائل الجسم وخاصة البلازما (السائل الذي يوجد به خلايا الدم وأملاحه والمواد الذائبة فيه وغير الذائبة)، لأنها جزيئات تفرز وليست خلايا.

(١١,١,٢) بعض الفيروسات تراوغ الجهاز المناعي أو قد تصيبه

Some viruses evade the immune system and may infect it

ما إن تتأسس الإصابة بالفيروس، ومثله بكتيريا السل والجذام والبروسيللا والسالمونيللا، إلا ويهرب من آليات المناعة الطبيعية كما أنه قد يتبع استراتيجيات خداع لحمايته من التفاعلات المناعية للعائل، بما في ذلك التداخل مع النشاط الابتلاعي ووظيفة الجسم المضاد. ومن بين ذلك الاختباء داخل الأنسجة من قبل أن تتوارد كميات كبيرة من الأجسام المضادة لتعمل ضده.

ومن بين الفيروسات التي تؤثر على وظيفة خلايا المناعة الوسيطة بالخلية: الإنفلونزا وفيروسات الالتهاب الكبدي والقوباء البسيطة، وفيروس مضخم الخلايا، وفيروس مسبب الأيدز إتش آي. في (HIV) والحصبة والنكفية والحصبة الألمانية وإبشتاين - بار.

(١١,١,٢,١) إصابة خلايا الجهاز المناعي ذاتها

وهي أهم استراتيجيات بعض الفيروسات في إصابة خلايا الجهاز المناعي، مثل:

١ - فيروس إتش. آي. في (HIV) المسبب لمرض الأيدز، إذ يصيب الخلايا الليمفاوية - ت و ب والخلايا وحيدة شكل النواة Monocytes والبلاعم الكبيرة، والبلاعم الكبيرة الموجودة بالمخ Microglial cells، إذ يحدث فيها التأثير المرضي الخلوي والفقد لخلايا - ت موجبة سي دي -٤ ($CD4^+$). كما يؤدي لاستنزاف الخلايا المصابة وعطبها. ويستحث إنتاج السايتوكاينات Cytokines التي تنشط التعبير عن فيروس إتش. آي. في.

٢ - فيروس إنزيم نازع هيدروجين اللاكتيك Lactic dehydrogenase virus (LDV) الذي يصيب الفئران، إذ يحدث إصابة للبلاعم الكبيرة التي تحمل جزيئات مركب التوافق النسيجي الرئيسي MHC قسم -٢. ويسبب الفيروس استنزافًا للبلاعم الكبيرة المحتوية على مركب التوافق النسيجي الرئيسي قسم -٢، إذ يؤدي هذا لإحباط وظيفة البلاعم الكبيرة المقدمة للأنتيجين.

٣ - فيروسات القوباء البسيط(٢)، والجدري، وأدنو -١٢، وفيروس مضخم الخلايا: وهي تصيب خلايا عديدة تحمل أنتيجينات مركب التوافق النسيجي الرئيسي قسم -١ (كل الخلايا ذات الأنوية). وتؤدي هذه الفيروسات لتقليل التعبير عن جزيئات مركب التوافق النسيجي الرئيسي قسم -١ على سطح الخلايا المصابة وبالتالي، التداخل مع نشاطات خلايا ت موجبة سي دي -٨ ($CD8^+$).

٤ - فيروس إبشتاين - بار: وهو يصيب الخلايا الليمفاوية - ب التي تحمل مستقبل cr2. وتؤدي الإصابة إلى التنشيط متعدد النسائل Polyclonal لخلايا - ب ويسبب الفيروس إنتاج جزيئات تحاكي إنترليوكين -١٠ الذي يسبب، بالتالي، تثبيط إنتاج إنترفيرون جاما.

٥ - فيروس الالتهاب الكبدي - ب: ويصيب الخلايا الكبدية، إذ يؤدي إلى تحرير الأنتيجينات الفيروسية، وإلى استحثاث التحمل Tolerance في خلايا - ب مع

الفشل في إنتاج الأجسام المضادة ضد الأنتيجين الفيروسي السطحي. كما يثبط إنتاج إنترفيرون ألفا ويقفل استجابة الخلايا المصابة ضد الإنترفيرون.

٦ - فيروس محلل الخلايا الليمفاوية المسبب لالتهاب الأغشية السحائية Lymphocytic choriomeningitis virus (LCMV) الذي يصيب الخلايا الليمفاوية - ت، ويؤدي إلى الاستنزاف النسيلي لخلايا - ت مع فقد الاستجابة ضد الفيروس.

(١١,١,٢,٢) التأثير على كفاءة المناعة الوسيطة بالجسم المضاد

تشمل طرق خداع الفيروس استراتيجيات تؤثر على كفاءة المناعة الوسيطة - بالجسم المضاد كما يلي:

١ - ففي الإصابات الفيروسية، وخاصة تلك التي تسببها الفيروسات المعوية Enteroviruses، تتكرر الإصابات وتكون قاسية خاصة في حالات المناعة السائلية المعطوبة مثل التي تكون في حالات النقص المناعي الوراثي. (ففي مرض براتون Bruton) وهو نقص مناعي ابتدائي موروث مرتبط بكروموزوم إكس متنح ويوجد في الصبيان ويكون من نتيجته عدم القدرة على تخليق الجلوبيولينات المناعية أي الأجسام المضادة). وقد يتكشف بعد التطعيم. وكذلك قد يظهر الالتهاب المخي السحائي Meningoencephalitis بعد الإصابة بفيروسات إيكو Echo وكوكساكي Coxsackie.

٢ - يكون للفيروس في عديد من الحالات القدرة على الهروب من آليات الوقاية للعائل، ويظل قادرًا على إحداث الإصابة، حتى وإن تعقد Complexed مع الجسم المضاد.

٣ - بعض الفيروسات تظل كامنة Latent، مثل مجموعة فيروسات القوباء. كما أنه يحدث لها معاودة تنشيط Reactivated على الرغم من وجود الجسم المضاد الدوار، وذلك بمرور الفيروس من خلية لخلية دون أن يمر بمجرى الدم.

٤ - تعتمد كفاءة الأجسام المضادة في منع الإصابة بالفيروس على ما إذا كانت كمية الأجسام المضادة تكفي لمنع الفيروس المار في مجرى الدم Blood stream من

الوصول إلى الخلية أو العضو الهدف أم لا. مثال ذلك فيروس شلل الأطفال Polioviurs، فإنه يعبر الجدار المعوي ويدخل إلى مجرى الدم ويمر إلى الحبل الشوكي فالمخ، إذ يتكاثر. ولو وجدت كمية صغيرة من الأجسام المضادة لتمكنت من معادلة الفيروس من قبل أن يصل إلى الخلايا الهدف في الجهاز العصبي. وتسلك عدد من الفيروسات الأخرى الطريقة نفسها وتمر إلى مجرى الدم في طريقها إلى العضو الهدف، ومن أمثلة ذلك الحصبة والنكفية والحصبة الألمانية والجدري المائي (العنقز). وتتميز الأمراض التي تسببها هذه الفيروسات بفترة حضانة مطولة Prolonged.

وعلى النقيض من ذلك، توجد فيروسات أخرى تتميز أمراضها بفترة حضانة قصيرة مثل فيروسات الإنفلونزا والبرد العادي Common colds، ولا تمر الفيروسات في مجرى الدم كما أن العضو الهدف لها هو موضع دخولها في الجسم أي الأغشية المخاطية التنفسية، وفي هذا النوع من الإصابة، فإن المستوى العالي من الأجسام المضادة في الدم، سوف يكون غير فعال نسبيًا ضد هذه الفيروسات مقارنة بالفيروسات المحمولة بالدم Blood - bone. ولكي تعمل مثل هذه الأجسام المضادة، يجب أن تعبر الأغشية المخاطية إلى الإفرازات التنفسية، ولكن ذلك لا يسمح بمرور الأجسام المضادة IgM و IgG، على حين أن الأجسام المضادة من النوع IgA، والتي تفرز في المخاطيات، تكون أكثر فعالية في معادلة هذه الفيروسات. ومن هنا، فخلاصة ذلك أن طرق التحصين Immunization التقليدية المستهدفة لإنتاج مستويات عالية من الأجسام المضادة في الدم، من المرجح ألا تكون فعالة ضد الفيروسات التي تهاجم الأغشية المخاطية، وأنه يجب أن يحفز التحصين إنتاج IgA موضعيًا على الأغشية المخاطية ذاتها، مثال ذلك إعطاء لقاح الإنفلونزا الحي المضعف داخل الأنف Intranasally والذي يستخدم الآن بكثرة.

ومثال آخر هو لقاح شلل الأطفال الحي المضعف لسابين Sabin- live attenuated polio vaccine، الذي يعطى بالفم في ثلاث جرعات تفصلها ٢ و ٣ و ٤ أشهر، ثم تعطى جرعة تعزيز Booster dose عند سن دخول المدارس.

(١١,١,٢,٣) التأثير على المناعة الوسيطة بالخليــــة: وتؤثر بعض الفيروسات على المناعة الوسيطة بالخلية مثل:

١ - الأطفال المصابين خِلقيًّا (ولاديًّا) Congenitally بالحصبة الألمانية Rubella، إذ قد اتضح أنهم يفرزون الفيروس حتى ١٨ شهرًا من العمر. وقد تبين أن هؤلاء الأطفال يمتلكون مستويات عالية من الأجسام المضادة IgM ضد الحصبة الألمانية ولكنها لا تعطي تحملاً بسبب أن المناعة الوسيطة بالخلية CMI تكون منقوصة نتيجة لإحباط تفاعلية الخلايا الليمفاوية Depression of lymphocyte reactivity، والتي تشاهد مع بعض الفيروسات مثل فيروسات الحصبة الألمانية، والقوباء ومرض نيوكاسل والالتهاب الكبدي.

٢ - لبعض الفيروسات المعينة القدرة على التكاثر في البلاعم الكبيرة Macrophages، مثل الفيروسات المنقولة بالمفصليات Arboviruses وفيروس الالتهاب الكبدي في الفئران Murine hepatitis وفيروس نازع هيدروجين حامض اللاكتيك وفيروس القوباء البسيط.

٣ - يتكاثر فيروس تحلل الخلايا الليمفاوية المسبب لالتهاب الأغشية السحائية Lymphocytic choriomeningitis، وفيروسات اللوكيميا Leukaemia وفيروس إبشتاين - بار Epstein Barr في الخلايا الليمفاوية.

ففي دراسات أجريت على فيروس لوكيميا الفئران، اتضح أن الفيروس يثبط في الفئران نشاط الجهاز المناعي سواء المناعة السائلية أو المناعة الوسيطة بالخلية. وفي فيروس لوكيميا فريند Friend virus في الفئران، يحدث تثبيط انتخابي لقسم معين من الجلوبيولينات المناعية هو IgG مما يقترح بأن التأثير يحدث على عشيرة معينة من الخلايا الليمفاوية - ب.

(١١,١,٣) التحصين (التمنيع) والذاكرة Immunization and memory

إن التعرض الطبيعي لأي فيروس أو التحصين المتعمد Intended immunization بلقاح (طعم = فاكسين Vaccine) سوف يتفاعل مبدئيًّا مع أنواع معينة من خلايا - ب

وخلايا ت - من أجل إزالة هذا الفيروس. وتتنشط خلال هذه التفاعلات تلك الخلايا لتعطي نسيلة Clone من خلايا - ت ونسيلة من - ب التي وهبت Commited نفسها لملاقاة هذا الأنتيجين (الفيروس) والتصدي له. ويؤدي هذا، أيضًا، بطبيعة الحال، لإنتاج بعض خلايا الذاكرة Memory cells، وهي تلك المسئولة عن ظاهرة التحصين. وببساطة، فإن خلايا الذاكرة هي خلايا - ت وخلايا - ب الناتجة أثناء الاستجابة المناعية Immune response ضد فيروس معين (أو أي أنتيجين)، وبالتالي، يحتفظ بها في الجسم بعد أن تشفى الإصابة التي حفزت على إنتاجها. وتحمل خلايا الذاكرة على سطوحها مستقبلات يمكن أن تتعرف على الأنتيجينات الفيروسية التي حفزت على إنتاجها سابقًا. ومن ثم، فإنه لو حدث في وقت تالٍ أن سبب الفيروس نفسه غزوًا للجسم، فسوف يكون العديد من خلايا - ت وخلايا - ب موجودة لترتبط بالفيروس، من خلال أنتيجيناته. وبذا تبدأ استجابة مناعية ثانوية - فعالة Secondary potent immune response، وسوف يكون هذا التفاعل قويًا وسريعًا، ويكون أكثر فعالية في إزالة الفيروس عن الإستجابة المناعية الابتدائية. ويحدث هذا عند معاودة إصابة الإنسان أو تعرضه للفيروس نفسه، وتحدث هذه الظاهرة نفسها في التطعيم Vaccination.

(١١,٢) آليات الدفاع في النباتات Defence Mechanisms in Plants

ليست النباتات مثل الحيوانات، من حيث إنها لا تمتلك جهازًا مناعيًا واضح التحديد. ومع ذلك، فإن النباتات تظهر بعض آليات الدفاع المختلفة ضد غزو مسببات الأمراض Pathogens، خاصة ضد الفيروسات، وهذه هي:

(١١,٢,١) آليات غير نوعية Non - specific mechanisms

(١١,٢,١,١)، تكوين جليد Cuticle سميك فوق خلايا البشرة Epidermal أو تكشفه أثناء النمو الثانوي Secondary thickening.

(١١,٢,١,٢)، ترسيب الشموع Waxes والسيليكا Silica والسيوبرين Subrin وغيرها من المواد غير المنفذة Impermeable خارج جدر خلايا أنسجة الأدمة Dermal tissues أو داخلها.

(١١,٢,١,٣)، وجود الجدر الخلوية التي لا تسمح باختراق الفيروس ودخوله، إلا إذا حدث فيها عطب Damaged أو أن تدخل الفيروسات بوسائل أخرى مثل: الحشرات، أو الديدان الاسطوانية Nematodes أو الفطر أو عن طريق الجراثيم الفطرية السابحة Zoospores..إلخ.

(١١,٢,١,٤)، وجود مواد أيضية Metabolites طبيعية في النبات والتي من شأنها أن تحطم الإصابة الفيروسية.

(١١,٢,٢) آليات مناعية نوعية Specific immune mechanisms

وهي كالتالي:

١ - يلاحظ أن بعض النباتات تكون، عادة، قابلة للإصابة Susceptible بأنواع معينة من الفيروسات ومنيعة Immune (غير قابلة للإصابة Insusuceptible) لغيرها، وقد تمكنت برامج التربية Breeding programmes من إنتاج نوع من البطاطس يسمى يو. إس. دي. إيه ٤١٩٥٦(USDA - 41956) وبه جين مناعة ضد فيروس البطاطس إكس PVX.

٢ - تعطي تفاعلات فرط الحساسية Hypersensitive reactions مقاومة Resistance لنباتات الحقل التي تفاعلت مع الفيروسات. وفي هذه الحالة، تتكون جروح موضعية Local lesions مسببة قتلاً لبعض الخلايا، ولكن لا ينتشر Spread الفيروس خارج هذه الجروح الموضعية. ويحدث مع العديد من الجروح الموضعية للنباتات مفرطة الحساسية استحثاث Induction تكوين مواد تعمل مضادات فيروسية Antivirals وتمنع انتقال Translocation الفيروس. وتعمل الفيتو أليكسينات Phytoalexins، والمواد شبيهة الإنترفيرون والبروتينات السكرية

Glycoproteins والليكتينات النباتية Plant lectins مستحثات فعالة للمواد ضد الفيروسية. وترجع المقاومة للانتشار الجهازي Systemic للفيروس أو السلالة الفيروسية التي تكون مصحوبة بإنتاج جروح موضعية، إلى وجود مورونة واحدة سائدة Single dominant gene. كما وجدت موروثتان للمقاومة في نبات الفلفل ضد فيروس البطاطس - إكس PVX. ويمكن أن تنكسر المقاومة عن طريق نشوء سلالات فيروسية جديدة.

٣ - إدخال مورثات الغطاء الفيروسي ضمن المادة الوراثية لنبات Incorporation of viral coat genes within the plant genome وهذه إحدى ثمرات الهندسة الوراثية التي بها تغرز المورونة أو المورونات المسئولة عن تكوين بروتينات غطاء الفيروس Coat = Capsid بداخل المادة الوراثية للنبات والتي يعبر عنها كأحد المكونات الوراثية الطبيعية للنبات. ويكون من شأن منتجات هذه المورونة أن تمنع تكاثر الفيروس المعروف بأنه يتكاثر عندما يغزو النباتات العادية.

الفصل الثاني عشر

توصيف الفيروسات

Characterization of Viruses

من ضرورات تعريف الفيروسات وتسميتها - كما هو الحال بالنسبة لأي نوع من الكائنات الحية - التوصل إلى جميع الصفات والخصائص المميزة لهذا الفيروس أو هذه المجموعة أو العائلة أو ربما للتفريق بين أجناس العائلة أو أنواع هذا الجنس أو سلالات أي نوع.

(١٢,١) متطلبات التوصيف

يجب أن يكون هناك مفتاح عملي يمكن به توصيف الفيروس، ومن المتطلبات اللازمة للتوصيف:

(١٢,١,١) الشكل والحجم والتركيب العالي الدقة Shape, size & ultrastructure:

لدراسة شكل الفيروس: يجب، أولا، البدء بعينات نقية Purified من الفيروس. وتفحص عينة من التحضير الفيروسي بالمجهر الإلكتروني النفاذ (النقال) Transmission electron microscope وذلك بتحميل معلق الفيروس على غربال نحاسي Copper grid عليه غشاء رقيق من الكربون أو الفورمافار Formvar ثم تصبغ العينة على الغشاء بقطرة أو اثنتين من خلات يوارنيوم Uranyl acetate أو فوسفوتنجستات Phosphotungstate (PTA) وبزيادة تكبير المجهر الإلكتروني إلى ٢٠,٠٠٠ ثم ١٠٠,٠٠٠أو ٢٥٠,٠٠٠ سوف توضح الشكل الظاهري الخارجي

للفيروس وسوف توضح ما إذا كان مغلفًا أم غير مغلف، وإذا كانت توجد عليه أشواك أو زوائد، وكذلك طبيعة الكابسوميرات ونظامها الفراغي. كذلك يمكن تحديد أبعاد الدقيقة الفيروسية وحجمها، أيضًا، سواء بالدراسة المباشرة للعينة في شاشة المجهر الإلكتروني أو بدراسة الصور المأخوذة لها Electron micrographs، وذلك بالمقارنة بفيروسات أخرى معروفة أو بوضع مقياس Scale محدد الطور في مجال الرؤية. أما دراسة التركيب العالي الدقة، فإنها تستلزم عمل قطاعات رقيقة جدًّا Ultrathin sections في الخلايا والأنسجة المصابة أو في كتلة من الفيروسات النقية مصلبة في الآجار ومحملة في قوالب من الراتنجات Resins. وتعمل هذه القطاعات بوساطة ميكروتوم عال الدقة Ultramicrotome وباستخدام سكين من زجاج خاص أو - أحيانًا - من الألماس. وتعطي هذه القطاعات فكرة واضحة عن المكونات الخارجية والداخلية للفيروس، وكذلك أبعادها النسبية علاوة على أن الفحص بالمجهر الإلكتروني سوف يعطي، أيضًا، معلومات محددة عن تماثل الفيروس Viral symmetry. كذلك يمكن تحديد حجم الفيروس النقي، أيضًا، وذلك بتمريره من خلال سلسلة من المرشحات العالية Ultrafilters معروفة القطر، وبمتابعة ذلك، فإن حجم الفيروس إذا كان أصغر من قطر المرشح بكثير فإنه يمر منه ثم يمر من الذي بعده، وهكذا إلى أن يصل إلى مرشح يكاد أن يحجز الفيروس، عندئذ، فإن حجم الفيروس يساوي ٦٧٪ من قطر هذا المرشح العالي.

(١٢,١,٢) تماثل الفيروسات Symmetry of viruses

لكل فيروس من الفيروسات تماثل فيما يتعلق بترتيب الكابسوميرات والوحدات (المورفولوجية) المكونة للعلبة (الكابسيد) الموجودة على سطح الدقيقة الفيروسية. ويستدل على التماثل الفيروسي من دراسة شكله أو تركيبه بالمجهر الإلكتروني، وهذا التماثل في الفيروسات إما أن يكون إيكوزاهيدراليًّا Icosahedral، وإما حلزونيًّا Helical، كما في الفيروسات الكروية المكعبية أو الفيروسات العصوية

على الترتيب. أما بالنسبة للفيروسات المزدوجة الشكل، مثل لاقمات البكتيريا المذيلة Tailed bacteriophages، فإنها تحتوي على تناظر مزدوج Bilateral symmetry إذ تكون إيكوزاهيدرالية فيما يتعلق بتماثل الرأس وحلزونية فيما يتعلق بتماثل الذيل. وإنه من الصعب في الفيروسات المعقدة، تحديد نوع التماثل. ويحدد نوع التماثل - كما سبق القول - بدراسة صور المجهر الإلكتروني وكذلك من الدراسات المعمولة على التشتت (الزيغ) بأشعة إكس X-ray diffraction. وفي التماثل الإيكوزاهيدرالي للفيروسات متساوية الأضلاع Isodiametric، يظهر الفيروس مكونًا من ٢٠ مثلثًا Triangles وثلاثين ضلعًا مشتركة Vertices واثني عشر ركنًا. بالإضافة إلى ذلك، فإن الفيروسات الإيكوزاهيدرالية يكون لها تماثل دوراني Rotaional symmetry هو: ٥ : ٣ : ٢.

(١٢,١,٣) الوزن الجزيئي (.Molecular weight (M.W

يجب تقدير الوزن الجزيئي MW للفيروس الكامل النقي، وكذلك للحامض النووي الفيروسي والبروتين أو البروتينات الفيروسية كل على حدة. وتوجد عدة طرق عملية لتقدير الوزن الجزيئي وذلك مع استخدام مرجع Reference لفيروسات أو بروتينات أو حموض نووية معروفة الوزن الجزيئي.

(١٢,١,٤) الحامض النووي Nucleic acid

يعد الحامض النووي الفيروسي المكون المهم الأول في الفيروس وعليه تتوقف خصائص كثيرة ومهمة ومحددة للفيروس، علمًا بأن النسبة المئوية للحامض النووي في الفيروس قد تكون ١ - ٥٠٪ من كتلة الدقيقة الفيروسية. وعند توصيف الحامض النووي الفيروسي يجب أن يتم ذلك على تحضيرات نقية تمامًا من الفيروس ثم يجري للبروتينات هضم أو إزالة أو فصل للحامض النووي عن باقي تراكيب الفيروس. ويجب أن يشمل التوصيف ما يلي:

* نوع الحامض النووي Type of nucleic acid (ح ن د DNA أو ح ن ر RNA).
* الخيوط Strandedness : هل هو مفرد الخيط Single (S.S) أم مزدوج الخيط -Double stranded (d.s).
* الوزن الجزيئي كما ذكر سابقًا.
* عدد قطع المورث Genome (الجِيّن) = N.A هل يتكون من جزيء واحد أو مجزأ Segmented وكم عدد القطع.
* هل يوجد الحامض النووي الفيروسي في دقيقة واحدة (سواء من جزيء واحد أو أكثر) أم يوجد في عدة دقائق (عندما يكون مجزأ) كما هو الحال بالنسبة للفيروسات متعددة الدقائق.
* حصر عدد الموروثات (جينات Genes) وذلك بدراسة البيولوجيا الجزيئية لها في الخلايا المصابة والتعبير عن الجين سواء في الخلايا المصابة (*in vivo*) أو في خارج الخلايا في نظام لا خلوي (*in virto*).
* تحليل النيوكليوتيدات التي يتكون منها المورث (الجين) ومعرفة أنواعها وأعدادها وترتيبها Sequences.
* معرفة هل يمكن للمورث Genome (الحامض النووي) أن يعمل، إضافة إلى ذلك كرسالةٍ وراثية Genetic message أي ح ن ر - رسول mRNA مباشرة دون الحاجة إلى أن يُنسخ Transcription، عندئذ، يطلق على هذا المورث أنه موجب المعنى Positive sense (+) أي أنه يمكن أن يترجم Translated مباشرة دون الحاجة إلى أن يتكون عليه ح ن ر - رسول. أما إذا كان المورث سالب المعنى Negative sense (-) فإنه يلزم، عندئذ، نسخه لعمل ح ن ر - رسول عليه، ويلاحظ ذلك، فقط، بين أنواع فيروسات ح ن ر، وأما فيروسات ح ن د (DNA) فإنه يلزمها عمل نسخ حتمًا حتى تتكون رسالة وراثية من ح ن ر - الرسول.

(١٢,١,٥) البروتينات Proteins

البروتينات هي المكون المهم الثاني في الفيروس. وتتكون معظم كتلة الدقيقة الفيروسية من البروتين (٩٩ - ٥٠٪)، وتتركز معظم البروتينات خارجيًّا كجزيئات من عديد الببتيد Polypeptide مكونة كابسوميرات Capsomers أي وحدات مورفولوجية، منها يتشكل الغطاء أو العلبة (الكابسيد Capsid، المحفظة). وقد تكون كل بروتينات الغطاء من نوع واحد من البروتين أو عدة أنواع مختلفة على حسب طبيعة الفيروس كما أن هذه الوحدات المورفولوجية قد تكون من جزيء واحد من البروتين Monomer أو جزءين Dimer أو ثلاثة Trimer أو أربعة Tetramer أو خمسة Pentamer أو ستة Hexamer كما قد تترتب بتوزيع هندسي معين على الفيروس. هذا بالنسبة للفيروسات غير المغلفة، أما الفيروسات المغلفة فإنها، إضافة إلى بروتينات العلبة، إلا أنها تحتوي على بروتينات أخرى توجد مرشوفة (مغروزة) Inserted في غلاف طبقتي الدهن، وقد تكون في صورة أشواك Spikes أو انتفاخات Peplomers أو عقد Knobs، كما قد تكون من نوع أو نوعين من البروتين أو مرتبطًا بها سكر (جليكوبروتين Glycoprotein)، كما قد تكون من بروتينات دهنية Lipoproteins.

وتتميز بروتينات أي فيروس بأنها غالبًا ما تكون قوية وثابتة كما أنها تؤدي عدة وظائف على حسب نوع الفيروس منها:

١ - إن البروتينات الفيروسية تحدد الشكل والحجم والبناء المعماري والتماثل في الفيريون.

٢ - إنها وسيط في Intermediates في عملية الإصابة Infection وذلك عن طريق البروتينات السطحية سواء في العلبة أو أشواك الغلاف أو الزوائد والتي تقوم بعملية اتصال Attachment بمواضع خاصة من الخلية الحساسة تسمى مواضع الاستقبال Receptor sites.

٣ - بعض إنزيمات الفيروسات تسبب تحللاً لكرات الدم الحمراء Hemolysis.

٤ - بعض بروتينات الفيروسات هي إنزيمات Enzymes قد تكون موجودة خارج الفيريون أو داخلها وهذه الإنزيمات تسهل عملية الإصابة واختراق الخلية أو تساعد في عمليات تكاثر الفيروس داخل الخلية وخاصة في عملية النسخ Transcription أي عمل رسالات وراثية من ح ن ر - رسول mRNA. وتسمى هذه الإنزيمات إنزيمات النسخ Transcriptases التي منها إنزيم نسخ من قالب وراثي من ح ن د، ويسمى إنزيم بلمرة معتمدًا على قالب من ح ن د لينسخ عليه ح ن ر DNA-Dependent-RNA polymerase أو إنزيم بلمرة معتمدًا على قالب من ح ن ر RNA-dependendent-RNA polymerase وإنزيم نسخ بلمرة ح ن د معتمدًا على قالب وراثي من ح ن ر RNA-dependent-DNA (Transcriptase) polymerase وهذا الأخير يسمى إنزيم النسخ العكسي Reverse transcriptase لأن المفروض في النسخ عمل ح ن ر (RNA) وليس ح ن د (DNA). كما أن بعض الفيروسات تكون داخل الخلية وأثناء عملية تكاثر الفيروس بعض الإنزيمات التي تسهل تفاعلات معينة، ولكن هذه الإنزيمات الفيروسية لا تدخل في تركيب الفيروس ومن ثم، يطلق عليها إنزيمات أو بروتينات غير تركيبية Non structural.

٥ - بعض بروتينات الفيروس تسبب الاندماج الخلوي Cell fusion أي أنها عندما تكون بين خليتين فإنها تؤدي إلى انصهار أغشيتهما السيتوبلازمية واندماجهما معًا في كتلة بروتوبلازمية واحدة تحتوي على نواتين، وربما تتكون هذه المدمجات الخلوية Syncytia من عدة خلايا، ولذا تسمى خلايا متعددة المجموعات الصبغية Polykaryocyte، وهي أحد أساليب التأثير الخلوي المرضي لبعض الفيروسات كما أنها تستخدم في الوراثة الجسدية Somatic cell genetics وكذلك في إنقاذ الفيروس Rescue الذي لا يتكاثر في خلية معينة ولكن بصهرها مع خلية أخرى حساسة يتكاثر فيها الفيروس بذا، يمكن عزله ودراسته.

٦ - بعض بروتينات الفيروس تسبب تلزنًا لكرات الدم الحمراء Haemagglutination.

٧ - البروتينات الفيروسية الخارجية تعمل على حماية المادة الوراثية الفيروسية.

(١٢,١,٦) بعض المكونات الكيميائية الأخرى للفيروس

Other viral chemical constituents

تحتوي بعض الفيروسات، إضافة إلى الحامض النووي الفيروسي والبروتين الفيروسي، على تراكيب كيميائية أخرى. وتضم هذه المواد (الدهون Lipids والنشويات Carbohydrates والأملاح المعدنية Minerals وعديدات الأمين Polyamines).

والجدير بالذكر أن كل هذه المكونات الكيميائية يكون مصدرها الخلية العائلة، ولا توجد أية جينات (موروثات) فيروسية لتخليقها، لذا فإن مثل هذه الفيروسات قد يختلف تكوينها في هذه المركبات على حسب نوع الخلية العائلة التي تنمى فيها مع ملاحظة أن الحامض النووي والبروتين الفيروسي لا يختلفان مطلقًا باختلاف العائل.

(١٢,١,٦,١) الدهون Lipids: لا توجد هذه الدهون في أي نوع من الفيروسات غير المغلفة إنما توجد في تلك التي تحاط خارجيًا بغلاف Enveloped. ويتكون الغلاف الفيروسي عادة من طبقتين من الدهون Lipid bilayer مثله مثل أغشية الخلية. وتشمل الدهون الأساسية الحموض الدهنية Fatty acids والفوسفوليبيدات Phospholipids وثلاثيات الجليسريد Triglycerides والكوليسترول Cholesterol.

(١٢,١,٦,٢) الكربوهيدرات Carbohydrates: أولاً توجد سكريات في كل الفيروسات باعتبارها تركيبًا أساسيًا، وهذه السكريات هي السكر الخماسي ٢َ- دي أوكسي ريبوز 2َ - deoxy ribose (هو ريبوز منزوع منه ذرة أكسيجين عند موضع(٢َ) والذي يدخل، أساسًا، في تكوين الحامض النووي دي أوكسي ريبوزي Deoxyribonucleic acic (ح ن د DNA) في كل فيروسات ح ن د. أما السكر الثاني فهو خماسي، أيضًا، وهو الريبوز Ribose الذي يدخل في تكوين الحامض النووي

الريبوزي Ribonucleic acid (ح ن ر RNA) للفيروس. وبالإضافة لذلك، فإن بعض الفيروسات المغلفة قد تحتوي على بعض مركبات نشوية أخرى مثل جلوزكوز أمين Glucosamine وفركتوز Fructose ومانوز Mannose وجالاكتوز Galactose وحامض السياليك Sialic acid علاوة على السكريات الدهنية Glycolipids والسكريات البروتينية Glycoproteins. وتوجد بعض جزيئات جلوكوز Glucose متصلة مع البريميدين الخاص بـ ح ن د في اللاقمات ت٢ ، ت٤ (T2,T4).

(١٢,١,٦,٣) **الأملاح المعدنية Minerals**: تحتوي كل الفيروسات على الفوسفور جزءًا أساسيًا من الحامض النووي. وبما أن الحامض النووي الفيروسي يكون سالب الشحنة نتيجة لوجود مجموعات الفوسفات، لذا فإن الأخيرة تجذب إليها الكاتيونات Cations. وقد وجد نحو ١٤ معدنًا مرتبطة مع الحموض النووية لبعض فيروسات النبات.

(١٢,١,٦,٤) **عديدات الأمين Polyamines**: هي مركبات بها مجموعات أمين - NH2 عديدة، وتؤدي وظائف أحيائية خاصة. ومن عديدات الأمين البيوتريسين Putricine (NH_2-CH_2-CH_2-NH_2) والسبرميدين Spermidine $H_2N(CH_2)_4$-$NH(CH_2)_3NH_2$ والسبرمين Spermidine $H_2N(CH_2)_3NH(CH_2)_3NH_2$، وهذه توجد في أنواع معينة من اللاقمات مثل P22, T4, T2 وفيروسات الإنفلونزا، والقوباء Herpes وفيروس شوطة الدجاج (نيوكاسل) Newcastle disease virus وتستطيع عديدات الأمين الكاتيونية إزاحة المعادن لترتبط بالحامض النووي الفيروسي.

(١٢,١,٧) **الخواص المصلية والمناعية Serological & immunological properties**

عند دخول أي جسم غريب (أنتيجين antigen) في حيوان فقاري أو إنسان، سواء كان طبيعيًا أو عن طريق الحقن المتعمد، فإن الجهاز المناعي The immune system للجسم يخلق Synthesizes أجسامًا مضادة Antibodies (أمصالاً مضادة Antisera) ضد هذا الجسم الغريب نتيجة للاستجابة المناعية الخلطية

Humoral immune response. والفيروسات، شأنها في ذلك شأن أي ميكروب، تمتلك أنتيجينات بروتينية، ودهون بروتينية وسكريات بروتينية قد يوجد واحد منها - على الأقل - أو أكثر أو كلها على سطح الفيروس، حسب نوع الفيروس. لذا فإنه لكل فيروس لا بد أن يوجد تركيب أنتيجيني أو أكثر على سطحه، وتتفاعل هذه الأنتيجينات نوعيًّا مع أجسامها المضادة Specific antigen-antibody reaction لتكون راسبًا Precipitate. وهذه التفاعلات نوعية جدًّا؛ فكل جسم مضاد لا يتفاعل إلا مع الأنتيجين الذي، استحث تكوين هذا الجسم المضاد، وتناظر نوعية هذا التفاعل تمامًا نظرية القفل والمفتاح أو الإنزيم ومادة الوسط. وبهذا التفاعل، عالي التخصص، يمكن أن نتعرف على الفيروس وأن نميز بين سلالات الفيروس الواحد وأن نفرق بين الفيروسات وبعضها بعضًا سواء كان ذلك للدراسة المعملية أو عند التشخيص العلاجي. والاختبار الترسيبي Preciptin test واحد من العديد من الاختبارات المصلية Serological tests التي يمكن أن تستخدم في تشخيص الأمراض أو في الدراسات الوبائية Epidemiological studies. وإذا كانت أهم الأنتيجينات توجد على سطح الفيروس، إلا أن بعض التكوينات الداخلية من بروتينات أو بروتين نووي Nucleoprotein يمكن أن يعمل لها أجسام مضادة ويستخدم تفاعلها المصلي في دراسات مفيدة. فعلى سبيل المثال، تستخدم الأنتيجينات الفيروسية Viral antigens أو الأنتيجينات الذائبة الموجودة بداخل فيروس الإنفلونزا للتمييز بين أنواع فيروسات الإنفلونزا أ، ب، ج، بينما تستخدم أشواك Spikes التلزن الدموي Haemagglutinin (HA) ونيورامينيديز Neuraminidase (NA) لتصنيف سلالة فيروس الإنفلونزا. وتختلف الفيروسات، كل على حدة، في تفاعلاتها مع الجهاز المناعي، فبعض الفيروسات تستحث تكوين كميات كبيرة من الأجسام المضادة، ومنها أقسام IgM, IgG, IgA، وغيرها. كما أن بعض الفيروسات تستحث التحمل المناعي (Immunological tolerance، أو عدم الاستجابة Immunological irresponsiveness) وبعضها الآخر يصيب البلاعم

الكبيرة أو يقتلها أو يقتل خلايا B-cells، أو يقتل خلايا ت T-cells، وتوجد فيروسات تصيب خلايا ت مثل فيروس الأيدز AIDS (HIV) وبذا يضرب الجهاز المناعي كله، على حين يصيب فيروس إبشتاين وبار Epstein-Barr الخلايا الليمفاوية، وكذلك فيروس جيب فابريشيا Bursa virus الذي يتكاثر في خلايا - ب في الطيور (مجازًا، فيروس أيدز الطيور!).

(١٢,١,٨) مدى العوائل Host range وتفاعلات الفيروس والعائل Virus - host interactions

إن بعض الفيروسات تصيب عائلاً واحدًا أو نوعًا واحدًا من الكائنات سواء على مستوى الجنس Genus أو النوع Species أو السلالة Strain. ومثل هذه الفيروسات يكون مدى العوائل لها ضيقًا جدًا ومحدودًا Restricted، وتسمى فيروسات وحيدة التكافؤ Monovalent viruses . ومن أمثلة ذلك فيروسات شلل الأطفال Polio والحصبة Measles والأيدز ADIS التي تصيب الإنسان، فقط. كذلك توجد فيروسات يكون لها مدى من العوائل محدود ببضع عوائل، ومن أمثلة ذلك فيروس السعار Rabies الذي يصيب الإنسان والكلاب والقطط (لاحظ أنه لا يصيب الخفاش مصاص الدماء Vampire Bat، ولكن هذا الحيوان يمكن أن يكون خازنًا Resrvoir وناقلاً للمرض). أما الفيروسات مثل الإنفلونزا Influenza وحمى الوادي المتصدع Rift valley fever virus والقوباء Herpes والجدري Pox، فإنها تصيب أكثر من عائل ومن مجموعات تصنيفية مختلفة. ومن أمثلة فيروسات النبات عديدة التكافؤ Polyvalent أي ذات مدى العوائل الواسع Wide host range فيروس تبرقش التبغ Tobacco mosaic virus (TMV)، وفيروس تبرقش الخيار Cucumber mosaic virus (CMV)، وفيروس تبرقش البرسيم الحجازي Alfalfa mosaic virus (AMV). وهي تصيب أجناسًا وأنواعًا وسلالات كثيرة من عدة عائلات مختلفة تقسيميًا. وتعتمد تفاعلات الفيروس والعائل على:

١ - نوع الفيروس.

٢ - نوع العائل.

٣ - الظروف البيئية السائدة وقت الإصابة.

لذا، فإن الناتج النهائي لهذه التفاعلات قد يكون واحدًا أو أكثر مما يلي:

(**١٢,١,٨,١) حالة حمل الفيروس Carrier state**: وفيها لا يتكاثر الفيروس، وإن وجد داخل العائل، ولا يظهر له مرض ومن الصعب إثبات وجوده.

(**١٢,١,٨,٢) الإصابة غير الظاهرة**: وهي ما يطلق عليها، أحيانًا، إصابة ممسوكة Masked infection، وفيها تحدث الإصابة ويتكاثر الفيروس، لكنه لا يسبب خللاً في أيض العائل ولا يسبب ظهور أعراض واضحة، وعادة ما ينتهي المرض ويشفى الكائن.

(**١٢,١,٨,٣) الإصابة الحادة Acute infection**: وهي إصابة يتكاثر فيها الفيروس في الخلايا المصابة ويسبب خللاً في الأيض وضررًا في الخلايا أو الأنسجة المصابة. ومن ثم، تعطي مرضًا واضحًا Apparent or overt disease تبدو له أعراض Symptoms عادة ما تكون مميزة لنوع الفيروس مع نوع العائل الذي تصيبه. والإصابة الحادة قد تنتهي بالشفاء Recovery خاصة في فيروسات الإنسان والحيوان، أو قد تنتهي في كثير من الأحيان الأخرى بصورة مرضية أخرى أو بالموت. وفي حالة الشفاء، تكون نتيجة تكوين مناعة قوية تتغلب على الفيروس.

(**١٢,١,٨,٤) الإصابة الراجعة أو المعاودة Recurrent infection**: وهي نوع من الإصابة الظاهرة لكن بعد شفائها تعود مرة أخرى أو مرات وربما تصبح إصابة مزمنة Chronic إذا استمر رجوعها لفترات طويلة ولعدة مرات. وفي هذا النوع من الإصابة، يحدث الشفاء عندما يتغلب الجهاز المناعي على الفيروس الذي لم يكن قد استأصله الجهاز المناعي فينشط الفيروس ثانية مسببًا المرض نتيجة كبحه للجهاز المناعي إلى أن يتغلب الأخير، وهكذا يظهر المرض في صورة حلقات Episodes أو موجات يعقبها شفاء مؤقت.

(١٢,١,٨,٥) إصابة مثابرة Persistent infection: وهـي إصابة ينتج عنها مرض ظاهر لكنها قد تكون عقب إصابـة حادة أو نتيجة لظروف مناعية. فنجد أن المرض يستمر لفترة أو سنين طويلة في هذه الحالة، يمكـن عزل الفيروس لكـن، لا الفيروس يتكاثر بدرجة شديدة ولا الجهاز المناعي يتغلـب بدرجة شـديدة، لـذا يستمر المرض مثابرًا ودائمًا.

(١٢,١,٨,٦) إصابة كامنة Latent infection: وهنا تحدث الإصابة بالفيروس الذي لا يمكـن الكشـف عنه لعـدة سنوات طويلة لا يبـدي أي أثـر أو مـرض، وفجـأة أو لظروف معينة، ينشط هذا الفيروس ليحدث إصابة حادة ظاهرة.

(١٢,١,٨,٧) الإصابة البطيئة Slow infection:وهنا نجد أن الفيروس يحدث إصابة، ويمكـن إثبـات وجـوده وتكـاثره المتزايد شـهرًا بعـد آخـر، أو سـنة بعـد أخـرى، لكـن تكشف المرض يكون بطيئًا وغير ملموس إلا بعد عدة أشهر أو سنين وتـزداد أعراضـه وشراسته تدريجيًا وأيضًا، عند تكشف المرض، ويصبح متقدمًا Progressive.

(١٢,١,٨,٨) الإصابة السرطانية Cancer: وهي إصابة لا يظهر فيها المرض إلا بعد سنوات طويلة وهو يشبه كلاً من الإصابة الكامنة والبطيئة ويستغرق عدة سنوات ولا يمكن الكشـف عـن وجـود الفيروس في أية مرحلـة سـابقة على ظـهور الأورام الـتي تستغرق عدة سنوات طويلة حتى تظهر. ويمكـن للإصابـة الفيروسية أن تحدث ضررًا وتدميرًا Destruction للخلايا المصابة وللعـائل ومـن ثـم، تحـدث المرض الشـديد، وفي أحيان أخرى، فإن الفيروس لا يغـير كثيرًا ولا يضـر كثيرًا في فسيولوجيا وأيض العـائل ولكـن، في أحيـان أخـرى، يمكـن أن يقفـل Shut off تخليـق العـائل للـبروتين، ح ن د (DNA)، أو الهرمونات أو أي جزيئات كبيرة سـواء مـن نـوع واحـد أو أكثر أو كلها على حسب استراتيجية الإصابة وشراستها.

ومن الجدير بالذكر أن الفيروس قد يستقر Reside إمـا في سيتوبلازم الخليـة، وإما في نواتها وإما يحتاج إلى الاثنين معًا. كذلك، فإنه من الأعـراض المرضيـة الخلويـة Cytopathology نتيجة للإصابة أن يشمل ذلك آلات التخليـق Synthetic machineries

وعضيات الخلية والتركيب الهيكلي والتنظيمي للخلية محدثًا تأثيرًا خلويًا مرضيًا Cytopathic effect (C.P.E) يمكن رؤيته بالمجهر الضوئي عند فحص المزارع النسيجية Tissue culture أو خزعة (عينة جراحية) Biopsy مأخوذة من الإنسان أو الحيوان المصاب.

(١٢,١,٩) الثبات الوراثي وتنوع السلالات Genetic stability & strain variation

إن أي فيروس يكون، عادة، ثابتًا Stable فيما يتعلق بتركيب المادة الوراثية ووزنها الجزيئي وطولها وأنواع النيوكليوتيدات Nucleotides وتتابعاتها Sequences. كذلك، أيضًا، من حيث عدد المورثات Genes وترتيبها لكن بعض الفيروسات يحدث بها تغير وراثي Genetic change من حين لآخر، بينما تتميز أنواع ثالثة بالتغير المستمر في مادتها الوراثية. وعلى مدى التطور، فإن فيروسات مثل أدنو Adeno وريو Reo وشلل الأطفال Polio وكوكساكي Coxsackie والبرد العادي Common cold وتبرقش التبغ TMV واللاقم لامدا λ قد حدث فيها تنوعات وراثية قليلة ومختلفة أدت إلى ظهور أنواع أنماط Types وإذا تغيرت هذه الأنماط (الطرز)، فإنها تعطي تحت أنماط (تحت طرز) Sub-types، وعادة ما تكون الأنماط أو تحت الأنواع ذات ثبات وراثي. وقد يحدث هذا التغير طبيعيًا Naturally أو بالاستحثاث Induction، ومن ثم، ينتج الفيروس سلالات مختلفة. وقد ينتج عن التنوع الوراثي في الفيروسات ظهور سلالات شرسة جدًا (ضارية Virulent)، أو لا تعطي أعراضًا مرضية Asymptomatic (أي تكون غير شرسة Avirulent أو مضعفة Attenuated). وتستخدم – الآن – السلالات المضعفة في إنتاج اللقاحات Vaccines للتحصين Vaccination ضد الأمراض الشرسة سواء بالنسبة لأمراض الإنسان أو الحيوان. كما أن هذه التطبيقات قد حققت نجاحًا جزئيًا في مجال أمراض النبات الفيروسية. أما الأنواع التي تزداد شراستها طبيعيًا أو عمدًا، فإنها يمكن أن تستخدم في الحرب الجرثومية. ويلاحظ أن الفيروسات التي يُتبدل فيها جين أو أكثر يقال إنها حدث بها تغير أنتيجيني Antigenic shift، أما إذا حدث بها طفرة، فيكون قد حدث بها انحراف أنتيجيني Antigenic drift في جزئية من أحد الجينات أو حمض أميني واحد في بروتينه.

(١٢,١,١٠) تأثير العوامل الفيزيائية والكيميائية The effect of physical & chemical agents

إن بعض العوامل الفيزيائية والكيميائية يمكن أن تحمي تكامل Integrity الفيريونات وقدرتها على إحداث الإصابة. ومن ناحية أخرى، فإن بعض هذه العوامل يمكنها أن تحدث تفكيكًا Dissociation للفيريونات وأن تقتلها. إضافة إلى ذلك، فإن بعض هذه العوامل تحدث طفرات Mutations وتنوعًا في السلالات.وتشمل العوامل الفيزيائية درجة الحرارة، وأشعة جاما Gamma rays (أشعة مؤينة Ionizing radiation) والأشعة فوق البنفسجية Ultra violet light (UV) وهي أشعة غير مؤينة Non ionizing. ومن العوامل الكيميائية الإنزيمات، ومخرجات البروتين عن طبيعته Protein denaturants، والفينول Phenol، وكبريتات دوديسيل الصوديوم Sodium dodecyl sulfate (SDS)، ودي أوكسي كولات الصوديوم Sodium decoxy cholate، وحامض النيتروز Nitrous acid، والفورمالدهيد Formaldehyde، وهيدروكسيل أمين Hydroxylamine، والعوامل الألكيلية Alkylating agents (أيودو خلات Iodo acetate)، وإيثيلين الأوكسيد Ethylene oxide، وبعض المواد الكيميائية الأخرى يمكنها أن تثبط الفيروس وتقتله.

(١٢,١,١١) الانتقال والانتشار في الطبيعة Transmission & dissemination in nature

تمتلك الفيروسات طرقًا فعالة في نقلها وانتشارها وتدويرها = Recycling Circulation في الطبيعة. ويعني الانتقال أن ينتقل الفيروس من أنواع مريضة أو حاملة للمرض إلى أخرى من النوع نفسه أو أنواع أخرى ليتكاثر ويحدث المرض فيها. ويمكن أن يكون انتقال الفيروس مقصورًا على مجتمع Population معين أو منطقة جغرافية معينة مسببًا وبائيات محدودة، أو أن ينتشر انتشارًا بعيدًا محليًا أو عالميًا، فالإنفلونزا (على سبيل المثال) تسبب وبائيات موسمية Seasonal epidemics أو عالمية Pandemics. وتتضمن الفيروسات إحداث الإصابة بها عن طريق:

١ - الاتصال المباشر Direct contact.

٢ - الرذاذ Aerosols.

٣ - الانتقال بالمياه Water borne.

٤ - الانتقال بالتربة Soil borne.

٥ - الانتقال خلال البيض Oviborne.

٦ - الانتقال خلال المواليد Viviborne.

٧ - الانتقال بالطفيليات Parasites.

٨ - الانتقال بالجروح Wounds.

٩ - الحقن Injection.

١٠ - الناقلات Vectors مثل الحشرات Insects والقراد Ticks والحَلَم Mites... إلخ.

والفيروسات التي تنتقل بوساطة الناقلات لا تسبب أي مرض للناقلات التي تنقلها على الرغم من أنها قد تتكاثر بدرجة ما في داخلها. وفي كثير من الأحيان، تستلزم إستمرارية الفيروس في الطبيعة وجود خزان Reservoir، ربما يكون عائلاً آخر لا يتأثر به كثيرًا.

ويتميز فيروس الإنفلونزا بقدرة فريدة موروثة في سرعة انتشاره وإحداثه للوبائيات.

(١٢,١,١٢) عزل فيريون مفرد Single virion isolation

يلزم للتوصيف الدقيق والمؤكد لأي فيروس الحصول عليه وعزله بوصفه فيريونا نقيًا، خاصة أن الكثير من الفيروسات تكون في إصابة مختلطة في الطبيعة. ولعمل مثل هذا العزل النقي، تجرى واحدة أو أكثر من هذه الطرق:

١ - العزل على متدرج الكثافة بالطرد المركزي إذ يفصل كل فيروس على حدة في حزمة خاصة على حسب وزنه الجزيئي.

٢ - من رائقة Plaque مفردة (بالنسبة لفيروسات الإنسان والحيوان والبكتيريا) أو من جرح موضعي Local lesion (بالنسبة لفيروسات النبات).

(١٢,١,١٣) المكافحة Control

إن مكافحة أي فيروس تُعدّ عملاً صعبًا ، لا يتحقق أبدًا. وتشمل وسائل المكافحة :

١ - المنع Prevention.

٢ - التثبيط Invactivation.

٣ - التحصين Immunization (التطعيم Vaccination) : نجح في إستئصال فيروس الجدري.

٤ - الحصول على أنواع مقاومة Resistant أو منيعة Immune ضد الإصابة الفيروسية أو تطويرها.

٥ - العلاج الكيميائي Chemotherapy.

(١٢,١,١٤) التصنيف والعلاقات التصنيفية Taxonomy & taxonomical relationships

يمكن أن تصنف الفيروسات بسهولة في عائلات وأجناس وأنواع تبعًا للقواعد المنصوص عليها من قبل اللجنة الدولية لتقسيم الفيروسات وتسميتها International Committee on Taxonomy and Nomenclature of Viruses.

(١٢,١,١٥) معادلة الخصائص الفيروسية كريتبوجرام The Cryptogram (المعادلة الشفرية أو المعادلة الرمزية)

وهي وصف موجز لأهم خصائص الفيروس ذات الوزن المهم المتساوي من حيث توصيف الفيروس والتي بها يمكن ، لأول وهلة ، التوصل إلى أهم مميزات الفيروس. وقد وضع هذا النظام جيبس وهاريسون Gibbs and Harrison عام ١٩٦٩م. وتتكون معادلة الخصائص من أربعة أزواج من الرموز وترمز إلى أربعة أزواج من الصفات :

فمعادلة التوصيف لفيروس تبرقش التبغ ، على سبيل المثال ، هي :

R/1: 2/5: E / E: S/O

(١٢,١,١٥,١) زوج الصفـات الأول 1st Pair. فالزوج الأول يمثل: نوع الحامض النووي/عدد خيوط الحامض النووي Type of nucleic acid / Strandedness، وبذا فإما أن يكون الحامض النووي ح ن د DNA ويرمز له بالرمز D وإما ح ن ر RNA ويرمز له بالرمز R. أما عدد الخيوط فإما أن يكون ثنائي الخيط Double stranded فيرمز له بالرقم٢ ، وإما أحادي الخيط Single stranded ويرمز له بالرقم ١.

(١٢,١,١٥,٢) زوج الصفات الثاني 2nd Pair: الوزن الجزيئي للحامض النووي Molecular weight of nuleic acid والنسبة المئوية للحامض النووي Percentage of nucleic acid.

وهو يمثل الوزن الجزيئي للحامض النووي لفيروس معبرًا عنه بالمليون دالتون ويكتب العدد، فقط، الذي يمثل العدد بالمليون، ويمثل الجزء الثاني النسبة المئوية للحامض النووي في الدقيقة الفيروسية الكاملة المعدية. وهذا المصطلح يبين التكوين في الدقيقة الفيروسية المعدية. وفي بعض الأحيان، يكون المورث مجزأً. فإذا وجد المورث في أكثر من قطعة بداخل دقيقة فيروسية واحدة، فإنه يوضع رمز سيجما (Σ) قبل الوزن الجزيئي ليعني أن هذا الوزن الجزيئي هو مجموع قطع المورث الموجودة في دقيقة واحدة (مثل فيروسات الإنفلونزا وريو والأيدز). أما إذا كان المورث مجزأً أو موزعة قطعه، كل في دقيقة فيروسية مستقلة (مثل بعض فيروسات النبات متعددة الدقائق)، فإن الوزن الجزيئي إلى النسبة المئوية له يوضعان مستقلين لكل دقيقة مع إضافة زائد بين كل حاصل الجمع (فيروس خشخشة التبغ Tobacco rattle على سبيل المثال، يتكون من دقيقتين بهما جزءان من ح ن ر، لذا، يكتب الزوج الثاني هكذا: 2.3/5+0.6إلى 1.3/5).

(١٢,١,١٥,٣) الزوج الثالث 3rd Pair: وهو يمثل الإطار الخارجي للدقيقة الفيروسية Outline of virus paricle إلى الإطار الخارجي للنيوكليوكابسيد Ouline of nucleocapsid (الحامض النووي الفيروسي عندما يكون مرتبطًا بالكابسيد) ورموز هاتين الصفتين كما يلي:

S = Spherical كروي.

E = Elongated with parallelsides متطاولة مستوية النهايتين.

U = متطاولة بنهاية أو نهايتين مستويتين.

X = معقدة أو ليست كما سبق.

(٤,١٥,١,١٢) الزوج الرابع 4th Pair: وهو يحدد نوع العائل المصاب Host/ونوع الناقل Vector.

(أ) الرموز المستخدمة في العائل هي :

Algae = A	طحلب	B = بكتيريا	Bacteria
Fungus = F	فطر	P = تريديات	Pteridophyte
Seedplant = S	نبات بذري	V = حيوان فقاري	Vertebrate
Invertebrate = I	حيوان لا فقاري	M = ميكوبلازما	Mycoplasma

(ب) الرموز المستخدمة في الناقل :

Ac = الحلم Mites والقراد	Mites & Ticks	(Acarina, Arachinda)
Fu = فطريات	fungi	(Chtridiales, Plasmodiophorales)
Al = الذبابة البيضاء		(Aleyroidiade, Hemiptera)
Ne = نيماتودا (الديدان الاسطوانية		(Nematodes, Nematoda)
Ap = المن	Aphids	(Aphididas, Hemiptera)
Au = نطاط الورق	Leaf hopper	(Auchenorrhynca, Hemiptera)
Th = التربس	Trips	(Thysanoptera)
Cc = البق الدقيقى	Mealybug	(Coccidae, Hemiptera)
Ci = الخنافس	Beetles	(Coleoptera)
Di = الذباب والبعوض	Flies & Mosquitoes	(Diptera)
Ve = ناقل غير معرف		
O = لا يوجد له ناقل		

(جـ) رموز أخرى تطبق على كل الأزواج:

*** = هذه الخاصية غير معروفة للفيروس.**

( ) = المعلومات الموجودة بين هذين القوسين مشكوك فيها أو غير مؤكدة.

[ ] = معادلة الكريبتوجرام تعطي معلومات عن مجموعة فيروسية.

وفيما يلي أمثلة من الكريبتوجرام:

١ - فيروس تبرقش التبغ (TMV)	1 - R/1: 2/5: E/E: S/O
٢ - فيروس البطاطس إكس (PVX)	2 - R/1: 2.2/6: E/E
٣ - فيروس تبرقش الخيار (CMV)	3 - R/1: 1.3/19+101/19+0.8/19: S/S/Ap
٤ - فيروس تقرح التبغ (TNV)	4 - R/1: 1.5/19: S/S: S/AP
٥ - فيروس تبرقش القرنبيط (Co MY)	5 - D/2: 4.5/16: S/S: S/AP
٦ - فيروس خرخشة التبغ (TRV)	6 - R/1: 2.3/5+0.9/5: E/E S/Ne
٧ - فيروس البطاطس واي (PVY)	7 - */*: */*: E/E S/AP
٨ - فيروس القرنفل الكامن (CLV)	8 - R/1: */6: E/E: S/Fu,0
٩ - فيروس التبرقش الأصفر في اللفت (TYMV)	9 - R/A: 1.9/3.4: S/S: S.C1
١٠ - فيروس تبرقش اللوبيا (COMV)	10- R/1: 1.5/24+2.6/33: S/S: S/C1
١١ - فيروس التبقع الحلقي للتبغ (TRS)	11- R/1: 2.2/40: S/S: SNe
١٢ -فيروس التقزم الشجري للطماطم (TBSV)	12- R/1: 1.5/17: S/S: S/*
١٣ - فيروس الذبول المبقع في الطماطم (TSWV)	13- R/*: */*: S/S: S/Th
١٤ - فيروس تبرقش البرسيم الحجازي (AMV).	14- R/1 $\frac{1.3}{18} + \frac{1.1}{18} + \frac{0.9}{18} + \frac{0.3}{18}$ U/U: S/AP

(١٢,٢) أمثلة من فيروسات الإنسان والحيوان

(١٢,٢,١) عائلات ح ن د DNA families

١ - فيروس اللسان الأزرق في الغنم	1 - R/2: 12/* 12/*: S/S: 1,V/Ve, AC,DI (BTDV)
٢ - عائلة بارفو Parvoviridae.	2 - D/1: 1.5 – 1.8/26: S/S: V/C.I.O

٣ - عائلة بابوفا Papovaviridae.	3 - D/2: 3/12: 2/2: V/O VSAC,Si
٤ - عائلة أدنو Adenoviridae.	4 - D/2: 20 – 25/12-14: S/S V/I.O.R
٥ - عائلة القوباء Herpesviridae	5 - D/2: 92-102/805: Se/S: (F) (I) V/C.O.R
٦ - عائلة إيريدو Iridoviridae.	6 - D/2: 130/15-20: S/S: I/I
٧ - عائلة الجدري Poxviridae.	7 -D/2: 150/5: */*: V/O.R

(١٢,٢,٢) عائلات ح ن ر RNA Families:

١ - عائلة بكورنا Picornaviridae	1 - R/1: S.5/30: S/S: Z.V/I.OR
٢ - عائلة كاليسى	2 - R/1: 2.6-2.7/18-22: S/S: V/I.R
٣ - عائلة توجا	3 - R/1: 3.5/A: Se/S: V/C.R
٤ - عائلة ريو	4 - R/2: 14 -15/15: S/S: V/I.O
٥ - عائلة أرينا	5 - R/1: 9/*: Se/E: V/I.R
٦ - عائلة بونيا	6 - R.1: 6/*: Se/E: V/C, ve, Ac, Di
٧ - عائلة أورثوميكسو	7 - R/1: 4 /1: Se/E: V/R
٨ - عائلة باراميكسو	8 - R/1: 5 – 8 /1: Se/E: V/R
٩ - عائلة رابدو	9 - R/1: 4.6/1: Ue/E: 1.V/o,ue,Di
١٠- عائلة رترو	10- R/1: 7/2: Se/E: V/C,O

الفصل الثالث عشر

فيروسات النبات
Plant Viruses (Phytoviruses)

تُعَدُّ فيروسات النبات ذات أهمية قصوى مثلما هو الحال مع فيروسات الإنسان والحيوان، وقد تعاظمت أهميتها أكثر، خصوصًا، في العصر الحديث. وتتعرض النباتات الراقية، عمومًا، ونباتات المحاصيل، خاصة، للإصابات الفيروسية Viral infections. لذا، فإن العديد من الفيروسات تسبب أمراضًا تؤدي إلى نقص المحصول وفقد في إنتاج الطعام وأضرار كبيرة لنباتات الزينة Horticultural plants، كما تؤثر، أيضًا، على التوازن البيئي الحيوي، فالكثير من النباتات المستأنسة تكون عرضة للإصابة بفيروس أو أكثر، لهذا السبب، فإن الأمراض الفيروسية للنباتات تسبب أزمات اقتصادية على مستوى العالم، وخاصة في الدول النامية Developing countries.

وكما أدت الأمراض الفيروسية في القديم إلى تدمير حضارات وانهيار دول نتيجة للأمراض التي فتكت بالناس، وأيضًا، بالحيوان، إلا أن الأمراض الفيروسية في النبات، ربما تكون قد أدت أدوارًا مهمة من بينها:

١ - عملت انتخابًا طبيعًا Natural selection لنباتات كل بلد ومحاصيله، بحيث إن الأصناف التي قاومت الأمراض هي تلك التي نجحت زراعتها واستمر الناس يعتمدون عليها وأصبحت متوطنة Indgenous في كل بلد.

٢ - من هذا المنطق، فإن الفيروسات ربما تكون قد أثرت بشكل أو بآخر في نوع التواجد النباتي (فلورا) Flora في كل منطقة.

٣ - إن النباتات المستأنسة أكثر عرضة للإصابة الفيروسية عن النباتات البرية Wild - types. وإن ازدهار النباتات البرية أو داخلية المنشأ يرجع إما إلى أنها أكثر مقاومة Resistant للأمراض الفيروسية، وإما لعدم وجود الفيروسات المتخصصة Specific عليها في بيئتها.

٤ - إن المناطق الجغرافية والسياسية بين دول العالم كانت حاجزًا لمنع انتشار الوبائيات المحلية Local epidemics من أن تسبب وبائيات عالمية Worldwide، أو أكثر اتساعًا وبذا، ظلت في الغالب وبائيات متوطنة Endemic.

وإن مصر، وهي من أقدم البلدان الزراعية في العالم، قد تعرضت للكثير من الأمراض الفيروسية الشرسة، كما تعرضت لها دول كثيرة في منطقة الشرق الأوسط، سواء تلك القديمة في الزراعة أو بعض الدول التي استحدثت الزراعة في أرض بكر تم استصلاحها بعد توفير مصادر المياه لها. حتى إن الزراعة المحمية Protected cultivation أصبحت - الآن - تعاني، بدرجة خطيرة جدًا، من الأمراض الفيروسية، مما قلل الإنتاجية وأدى إلى رداءة الجودة المحصولية وارتفاع التكلفة.

ولقد أدى إدخال زراعة الفراولة Strawberry في منطقة الإسماعلية بمصر في عام ١٩٨٠م إلى إدخال أمراض فيروسية جديدة وخطيرة لم تكن موجودة سابقًا بمصر، لأن الشتلات التي استوردت كانت حاملة لفيروسات (ومن المعروف أن الفراولة يمكن أن تحمل أو تصاب بما يزيد على ٣٦ نوعًا من الفيروسات تصيب أنواعًا عديدة ومختلفة من المحاصيل).

وقد بدأت بوادر الانتشار الوبائي لأمراض جديدة في هذه المنطقة وغيرها أدت عام ١٩٨٣م وما يليه إلى تدهور محصول البطيخ والشمام الإسماعيلاوي... إلى أن قضي عليه تماما وأصبحت زراعته غير ناجحة.

وقد قام المؤلف عام ١٩٨٦م بحملة قومية من جامعات الأزهر والزقازيق وقناة السويس عملت دراسة مسحية Survey لوبائيات الفيروسات في نباتات المحاصيل الحقلية. وقد شملت هذه الدراسة مشروع الصالحية وفايد والقصاصين وضواحي

الإسماعلية وطريق بورسعيد ومنطقة شرق البحيرات، وخاصة ميت أبو الكوم الجديدة ومزارع الشباب. ومما يدعو للدهشة الشديدة أن كل أنواع المحاصيل كانت تعاني إصابات بفيروس أو أكثر، وقد تراوحت الإصابة مابين ١ و ١٠٠٪ بفاقد في الإنتاج المحصولي بين ١٠ - ١٠٠٪ وكانت أكثر المحاصيل تأثرًا هي: البطيخ، والشمام، والخيار، الفراولة، والكوسة، والكانتالوب، والفول السوداني، والسمسم، والفاصوليا، واللوبيا، والموالح، والكركديه، والأذرة، والجوافة، والعنب، والتين. ولقد وجد، أيضًا، أن محاصيل أخرى كانت قد اكتسبت إصابات فيروسية لأول مرة.

كما أوضحت هذه الدراسات أن المناطق الموبوءة بالإصابة كانت تنتشر فيها الحشرات والأعشاب Weeds التي أسهمت في الوبائيات كناقلات Vectors وخزانات Reservoirs للفيروسات. إضافة إلى ذلك، توجد عوامل أخرى تتسبب في انتشار الوبائيات الفيروسية في أية دولة وهي:

١ - استيراد البذور أو الشتلات Sprout transplants حتى ولو كانت مصحوبة بشهادة خلوها من الفيروس.

٢ - عدم إحكام الحجر الزراعي Plant quarantine.

٣ - عدم إنتاج البذور والشتلات بطريقة علمية تجعلها غير مصابة، وخاصة تلك التي تستخدم في التقاوي.

٤ - انتشار الحشرات كناقلات للأمراض الفيروسية.

٥ - نقص الوعي والإرشاد الزراعي.

٦ - التدمير المتعمد من جهات أجنبية، إذ تمكنت بعض الهيئات البحثية من إدخال أمراض فيروسية جديدة في أعوام ١٩٨٧م، ٨٨، ٨٩، و ٩٠ قضت على محاصيل كالطماطم والفول والمشمش (خاصة في الفيوم: دراسات للمؤلف) وبدأت الجهات نفسها تعمل على نشر أمراض للقطن بدأت في إدخال سلالات جديدة من حشرة المن Aphids الناقلة للفيروسات. وانتهت بتوطينها عن طريق فشل برامج المكافحة، إذ يوجد لدى الحشرات مناعة ضد كثير من المبيدات

الحشرية مثلما يصعب مقاومة الذبابة البيضاء White fly. كما زاد انتشار الأمراض الفيروسية المنقولة للقطن عن طريق الذبابة البيضاء.

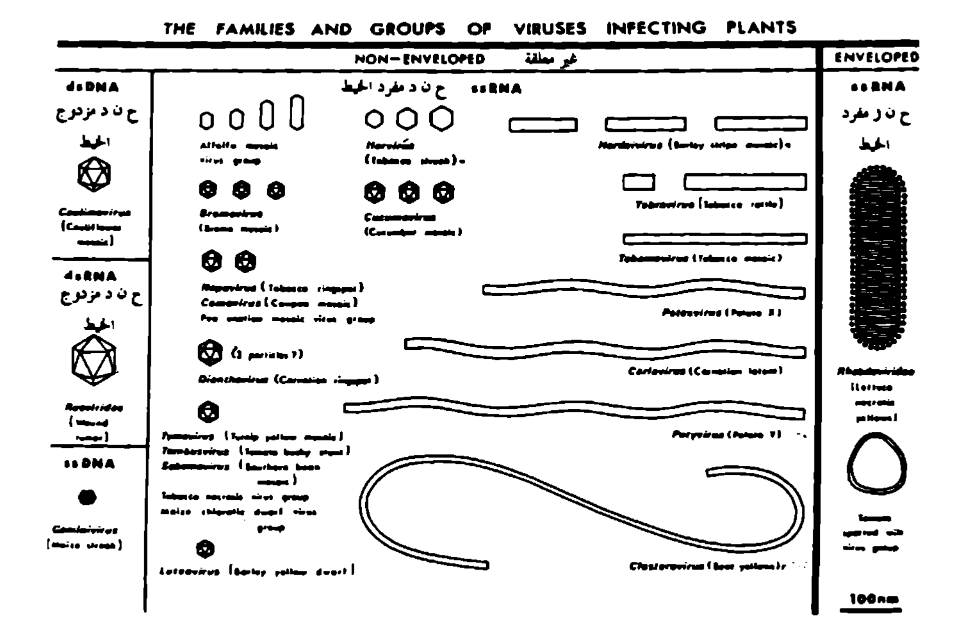
(١٣,١) الشكل الظاهري والتماثل

(Morphology and Symmetry)

تضم أشكال فيروسات النبات (الشكل رقم ٤٣) المجموعات التالية :

(١٣,١,١) فيروسات غير مغلفة Non-enveloped viruses: مثل المكعبية الإيكوزاهيدرالية Cubic icosahedral viruses.

عائلات الفيروسات ومجموعاتها التي تصيب النباتات



الشكل رقم (٤٣). تقسيم عام للفيروسات النباتية وأشكالها (ماثيوز (intervirology,1982)

(١٣,١,١,١) مكعبية من ح ن د مزدوج الخيط d.s. DNA cubic: مثل فيروس تبرقش القرنبيط Cauliflower mosaic virus.

(١٣,١,١,٢) مكعبية من ح ن ر مزدوج الخيط d.s. RNA: وهي التابعة لعائلة ريو Reoviridae، ومنها فيروس السرطان الجرحي Wound tumor virus الذي يصيب البرسيم، وفيروس فيجي في قصب السكر Figi sugar cane virus، وفيروس تقزم الأرز Rice dwarf virus.

(١٣,١,١,٣) مكعبية من ح ن د مفرد الخيط ss. DNA: وواقع الأمر أن الفيريونات يتشكل في ثنائيات كل واحد منها فيريونًا كاملاً مستقلاً وتتبع العائلة التوأمية (جيميني) Giminiviridae ومن أمثلتها فيروس تخطيط الذرة Maize streak virus وفيروس التفاف الورقة الأصفر في الطماطم Tomato yellow leaf roll والتفاف أوراق الكوسة Squash leaf roll virus.

(١٣,١,١,٤) فيروسات مكعبية من ح ن ر مفرد ss. RNA

(أ) من دقيقة واحدة of one particle:

١ - مثل فيروس تقزم الشعير الأصفر Barley yellow dwarf virus.

٢ - فيروس الشحوب المتقزم في الذرة Maize chlorosis virus.

٣ - فيروس نخر التبغ Tobacco necrosis.

٤ - فيروس تبرقش الفاصوليا الجنوبي Southern bean mosaic virus.

٥ - فيروس التقزم الشجيري في الطماطم Tomato stunt virus.

٦ - فيروس التبرقش الأصفر في اللفت Turnip yellow mosaic virus.

(ب) من دقيقتين of two particles:

١ - فيروس التبقع الحلقي في التبغ Tobacco ring spot virus.

٢ - فيروس تبرقش اللوبيا Cowpea mosaic virus (Co MV).

٣ - فيروس التبرقش المثألل في البسلة Pea enation mosaic virus (PEMV).

(جـ) من ثلاث دقائق of three particles.

١ - فيروس تبرقش الخيار Cucumber mosaic virus (CMV)

٢ - فيروس تبرقش الكوسة Squash mosaic virus (Sq MV)

(١٣,١,١,٥) فيروسات عصوية باسيللية متعددة الدقائق من ح ن ر مفرد الخيط
Baciliform - rod - shaped multiparticles of s.s - RNA

وهي تتكون من ٤ أو ٥ دقائق مختلفة الأطوال مثل فيروس تبرقش البرسيم الحجازي Alfalfa mosaic virus (AMV).

(١٣,١,١,٦) فيروسات من ح ن ر مفرد الخيط عصوية: Rod - shaped s.s -RNA

(أ) متعددة الدقائق من ثلاث دقائق:

مثل: فيروس التبرقش المخطط في الشعير Barley stripe mosaic virus.

(ب) متعدد الدقائق من دقيقتين:

مثل: فيروس خشخشة التبغ Tobacco rattle virus.

(جـ) من دقيقة واحدة مستقيمة:

مثل: فيروس تبرقش التبغ Tobacco mosaic virus.

وفيروس تبرقش الطماطم Tomato mosaic virus (To MV).

(د) من دقيقة واحدة مرنة منثنية:

١ - فيروس البطاطس إكس Potato virus X (PVX).

٢ - فيروس القرنفل الكامن Carnation latent virus وهذا أطول من PVX.

٣ - فيروس البطاطس واي Potato virus Y (pvy) وهو أطول من فيروس القرنفل الكامن.

٤ - فيروس اصفرار البنجر Beet yellows virus وهو أطول الفيروسات النباتية، عمومًا.

(١٣,١,٢) فيروسات مغلفة: Enveloped viruses.

(١٣,١,٢,١) عصوية باسيللية من ح ن ر مفردة s.s - RNA rod shaped وباسيليا Bacilliform.

وهي كلها تتبع العائلة العصوية (رابدو) Rhabdoviridae ، وإن كان معظمها يكون باسيلليًا وليس شكل العصي:

(أ) فيروس الاصفرار النخري في الخس Lettuce necrotic yellows virus.

(ب) فيروس الجومفرينا Gomphrena virus.

(١٣,١,٢,٢) مكعبية من ح ن ر مفرد s.s - RNA cubic:

مثل: فيروس الذبول المبقع في الطماطم Tomato spotted wilt virus.

(١٣,٢) تفاعلات الفيروس والعائل Virus - host interactions.

تبدي فيروسات النبات أنماطًا مختلفة من التفاعلات مع النباتات، وتوجد عدة تفاعلات واستجابات مختلفة تعتمد، أساسًا، على نوع الفيروس ونوع النبات والظروف المتاحة أثناء الإصابة وبيانها فيما يلي:

(١٣,٢,١) الإصابة الظاهرة Apparent infection:

وفيها يكون النبات حساسًا وقابلاً للإصابة Susceptible بالفيروس المعين الذي أدى إلى ظهور إصابة واضحة بما تعطيه على النبات من مظاهر وأعراض Symptoms ، وذلك لأن هذا النبات يدعم تكاثر الفيروس. ومن ثم، تتأسس الإصابة التي تعطي في النهاية أعراضًا لمرض ظاهر Obvious – overt disease.

وتوجد أنواع مختلفة من الإصابة الظاهرة:

(١٣,٢,١,١) جهازية Systemic:

وهي تلك الإصابة العامة Generalized التي تبين واحدًا أو أكثر من الاضطرابات Disorders ، (الأعراض Symptoms) التي تنتشر من موضع الإصابة إلى

أجزاء أخرى من النبات المصاب. ومن ثم، فإن الفيروس يسبب الإصابة ويتكاثر إلى فيريونات والتي ترحل، بالتالي، وتنتقل خلال مختلف أعضاء النبات. ويمكن أن تكون هذه الإصابة الجهازية شرسة جدًا Very severe، أو معتدلة Moderate، أو خفيفة جدًا Very mild. وتعتمد هذه التقسيمات على معدل نمو النبات ومعدل تكشفه وعلى المحصول الذي ينتجه، أيضًا. هذا فضلاً عما يسببه المرض من درجات الأعراض والخلل Abnormalities في مظهر نموه. ويقال عن العائل الذي يسمح بالإصابة الجهازية للفيروس بأنه حساس Sensitive، أو قابل للإصابة Susceptible.

(١٣,٢,١,٢) موضعية Local:

يسبب الفيروس في هذا التفاعل إصابة ظاهرة موضعية. لهذا فإن الفيروس يحدث في النبات بقعًا شاذة موضعية Local abnormal spots تظهر كجروح متفرقة Discrete lesions. ويسمح العائل القابل للإصابة بالفيروس بأن يتكاثر الفيروس، فقط، في المواضع التي يدخل منها، ولا يسمح العائل للفيروس بأن ينتقل أو ينتشر من موضع الإصابة إلى أية مواضع أخرى، حتى ولو كان على الورقة نفسها. لهذا فإن هذه الإصابة تكون مقصورة Restricted على المساحات الأولية التي تحدث فيها الإصابة والتي يدخل منها الفيروس. ويسمى النبات العائل الذي سمح بظهور إصابة موضعية Local infection بأنه مفرط الحساسية Hypersensitive.

ويناظر فرط الحساسية هنا فرط الحساسية في الإنسان والحيوان، إذ تكون استجابة العائل سريعة جدًا، ويكون من شأنها، في كثير من الأحيان، حماية الكائن من مزيد من انتشا ر العامل المرضي.

الجدير بالذكر أن الإصابة الجهازية تظهر أعراضها متأخرة بما يتراوح ما بين عشرة أيام وأكثر من شهر منذ بدء الإصابة بالفيروس، على حين تظهر البقع الموضعية في أقل من يومين إلى خمسة أيام في إصابة فرط الحساسية.

(١٣,٢,١,٣) إصابة موضعية وجهازية معًا: **Local and systemic infection**:

تعطي بعض الفيروسات مع نباتات معينة إصابة موضعية تظهر أولاً عند مكان الحقن خاصة إذا كان أوراقًا فلقية أو أولية Cotyledonary or primary leaves، لكنها، بعد ذلك، تظهر على الأوراق الخوصية Foliage في صورة أعراض جهازية على النبات نفسه.

وكما سبق ذكره، فإن الإصابة الموضعية تظهر أولاً ثم يعقبها بعدة أيام ظهور الإصابة الجهازية على الأوراق الأعلى.

(١٣,٢,٢) إصابة غير ظاهرة **Inapparent infection**:

تتميز هذه الإصابة الفيروسية بغياب أية أعراض ظاهرة خارجيًا، ومع ذلك، فإن الفيروس يكون قد أسس الإصابة وتكاثر داخل العائل. ولأن الفيروس المتكاثر لم يؤثر بدرجة شديدة على أيض النبات، أو تركيبه الخلوي، أو وظائف أعضائه، أو حتى على واحد من التخليقات الحيوية للجزيئات الكبيرة، فإن النبات يبدو ظاهريًا وكأنه معافى من أية إصابة، لأن الأعراض تكون غير واضحة ومخفية، وتسمى هذه الإصابة بأنها إصابة ممسوكة الأعراض Masked symptoms infection. ويمكن التعرف على هذه الإصابة وتحديدها بوساطة الفحص بالمجهر الضوئي أو الإلكتروني لإثبات وجود فيريونات أو أجسام محتواة، وكذلك بوساطة الاختبارات المصلية التي يمكن أن توضح وجود تفاعل مع فيروس ما أو فيروسات ما مشتبه فيها. علاوة على ذلك، فإن حقن عصير من هذا النبات في عوائل مختلفة، خاصة العوائل الكاشفةIndicator plants المنتجة للإصابة الموضعية، تكون وسيلة فعالة في تأكيد الإصابة الفيروسية غير الظاهرة.

وحيث إن هذا الفيروس لا تتكشف عنه أعراض ظاهرة خارجيًا، فإنه لا يغير كثيرًا من أيض العائل، وتتكون حالة من الإصابة المثابرة Persistent state التي تسبب ضررًا بسيطًا للعائل المصاب كما يطلق عليها اسم الإصابة الخالية من الأعراض Asymptomatic.

(١٣,٢,٣) شفاء النبات المصاب Plant recovery:

يعني شفاء النبات من الإصابة الفيروسية أن فيروسًا معينًا يمكن أن يصيب نباتًا حساسًا قابلاً للإصابة سواء كانت ظاهرة أو غير ظاهرة. ولسبب أو لأسباب معينة، يختفي الفيروس من النبات العائل المصاب الذي يستأنف نموه الطبيعي. ومن بين العوامل التي قد تؤدي إلى شفاء النبات من الإصابة الفيروسية حدوث تغيير أو تحويل في درجة الحرارة أو نظام الري Water management أو التغذية أو الإشعاع أو بعض الإضافات من مواد كيميائية (المخصبات، المبيدات الحشرية، المبيدات العشبية).

(١٣,٢,٤) التداخل Interference:

عندما يُحْدِث فيروس إصابة، سواء كانت طبيعية أو تجريبية، وينتج عنه واحدة من الإصابات السابق ذكرها، ويعقبه إصابة النبات نفسه بفيروس آخر، فإن هذا الفيروس الأخير لا يستطيع أن يؤسس أية عدوى. ففي مثل هذه الأحوال، تستمر الإصابة بالفيروس الأول في بناء بعض مواد الأيض Metabolites التي تتداخل Interfere وتمنع تكاثر الفيروس الثاني. لذا، فإن حالة تضاد الفيروس Antiviral state المستحثة Induced تثبط، جزئيًّا أو كليًّا، تأسيس الإصابة الفيروسية الثانية.

وتشبه هذه الحالة في بعض فيروسات النبات، ما يحدث في فيروسات الإنسان والحيوان التي تبدي تداخلاً للإصابة الفيروسية، وتؤدي إلى استحثاث تكوين مادة الممانع أو المتداخل "إنترفيرون" Interferon. وقد اكتُشف العديد من المواد المشابهة للممانع مع الكثير من الفيروسات النباتية مثل فيروس نخر "تقرح" التبغ Tobacco necrosis virus (TNV). علاوة على ذلك، فإن إصابة النباتات أو حقنها ببعض أنواع البكتيريا أو الفطريات يمكن أن تتداخل أو تمانع الإصابة بالفيروسات أو تقلل من درجة إصابتها.

(١٣,٢,٥) المقاومة Resistance:

إن بعض أجناس Genera النبات وأنواعه Species ، أو طرزه Varieties ، أو سلالاته Strains (عترات Cultivars أو نسائل Clones) تعد طبيعيًا مقاومة ، للإصابة بفيروس معين أو لبضعة فيروسات معينة أو العديد من الفيروسات. ويطلق على هذه النباتات التي تصد الإصابات الفيروسية ، طبيعيًا ، ولا تسمح بها أنها مقاومة Resistant أو منيعة Immune ضد الإصابة الفيروسية.

وهذه الحالة من المقاومة الطبيعية للإصابة الفيروسية إنما ترجع إما إلى وجود مواد أيضية Metabolites داخل النبات من شأنها أن تثبط Inactivate الفيروس قبل دخوله ، وإما أنها تمنع الفيروس من تأسيس الإصابة والتكاثر في الخلية حتى لو تمكن من دخولها بوسيلة أو بأخرى. كما أن هذه الظاهرة قد تعود إلى وجود موروثة (جين) أو موروثتين (يطلق عليها موروثات المقاومة Resistantce genes تعطي منتجات خاصة من شأنها أن تثبط الفيروس).

وقد أمكن ، بتنسيل ، الموروثات Gene cloning إما بوساطة الهندسة الوراثية Genetic engineering وإما بالتهجين Hybridization استخدامها لتربية = Raising Breeding سلالات Cultivars نباتية مقاومة بوسائل وتقنيات عملية Practical techniques.

كما أن أحدث التقنيات في هذا المجال جاءت نتيجة استخدام الهندسة الوراثية ، وذلك بوضع Insertion موروثة غطاء البروتين Capsid protein gene لأي فيروس ما في واحد أو أكثر من النباتات الاقتصادية المهمة التي تتأثر وبائيا بهذا الفيروس ، خاصة في الحقل. وبذا تعطي هذه الموروثة منتجًا لها من البروتين Gene product of protein داخل النبات أي أنها تصبح جزءًا من التكوين الوراثي للنبات Genetic constitution ومازالت هذه الأبحاث جارية تحت التجريب ، وقد ظهرت لها نتائج إيجابية مشجعة مؤخرًا في عام ١٩٩٤ و ١٩٩٥م.

(١٣,٢,٦) حالة حمل الفيروس Carrier state:

إن بعض النباتات يمكن أن تحوي Harbor فيروسات معينة في داخلها دون أن تبدي أي علامة من علامات المرض أو الإصابة. وهذه النباتات التي تعمل كحامل للفيروس، فقط، تمنع هذا الفيروس من أن يتكاثر، لكنها لا تستبعده Exclude منها على الإطلاق. كما أن بعض النباتات في الطبيعة قد تحتوي على أكثر من فيروس. وقد تستقر هذه الفيروسات المحمولة داخليا في كل أجزاء النبات أو أن تتركز في أماكن بعينها لا تتكاثر فيها. وربما تكون هذه هي الحالة التي تنتشر في البذور وأجزاء التكاثر الخضري من أبصال وريزومات وكورمات ودرنات وفي العُقَلْ، وبعض الشتلات Transplants.

وإنه من الممكن تفسير هذا التفاعل بأنه قد يعود إلى عوامل داخلية في النبات تكبح Suppress تكاثر الفيروس أو إلى عوامل بيئية خارجية أو النوعين معًا.

ويبدي كثير من الأصول الخضرية المستوردة من بلاد كثيرة حالة حمل الفيروسات هذه مثلما حدث في مصر عند استيراد شتلات الفراولة Strawberry أو أبصال الجلاديولاس Gladiolus. ولأن شتلات الفراولة يمكنها أن تحوي أكثر من ٦٠ فيروسًا مختلفًا في حالة الحمل، فقد أدى ذلك إلى نشر العديد من الفيروسات التي أصابت معظم المحاصيل الحقلية بدرجة شرسة قضت على زراعات كثيرة، منها: الشمام والبطيخ والخيار والطماطم والفول والفول السوداني، حتى إن الفراولة نفسها أصابتها الأمراض ولم تفلح زراعتها في المناطق الموبوءة سواء بعمل شتلات من الزراعات السابقة أو عن طريق استيراد شتلات جديدة.

أما الجلاديولاس فكانت أبصاله تستورد من هولندا ومعها شهادة مطبوعة ومختومة بأنها خالية من الفيروس. وللأسف الشديد، فإن حديقة الزهرية (أكبر حدائق الزينة بالقاهرة) عانت مرارًا، ولقد فقد ٩٠٪ من هذه الأبصال في الأطوار الأولى من زراعتها.

ومن الجدير بالذكر أن أغلب الأعشاب Weeds تكون مقاومة، طبيعيًا، للإصابات الفيروسية، ومع ذلك: ، فإنها تؤدي دورًا رئيسيًا في الوبائيات Epidemics

الفيروسية؛ لأنها تحوي الفيروسات في حالة الحمل. كذلك، فإن النباتات الراقية المتطفلة من الحامول والهالوك تسلك نفس هذا المسلك، أيضًا. ولقد شاهد المؤلف بمنطقة الخرج بالمملكة العربية السعودية انتشارًا وبائيًا لنبات الحامول المتطفل بصورة خطيرة أدت إلى نقل العديد من الأمراض الفيروسية.

(١٣,٢,٧) الإصابة الكامنة Latent infection:

يظل الفيروس في بعض الأحيان داخل النبات في حالة من عدم القدرة على التكاثر، وهي حالة مشابهة لحالة حمل الفيروسات، لكن، تحت بعض الظروف المعينة (سواء خارجية أو داخلية)، يبادر الفيروس Initiates بالتكاثر ثم تتكشف عنه أعراض مرضية. بديلاً لذلك، فإن بعض الأمراض الفيروسية النباتية تشبه ما يحدث من الإصابة الكامنة لبعض فيروسات الحيوان، أي أن يتباطأ تكاثر الفيروس أو يتأخر ويظل في حالة كمون لفترة طويلة تمتد إلى قرب نهاية موسم الإزهار، والإثمار، ثم يكون المرض قاتلاً عندما تنشط فتتساقط الأزهار أو لا تتكون أولا تعقد الثمار No fruit setting، مما يسبب خسارة فادحة. وهذا هو ما حدث في الصوبات الزراعية (البيوت المحمية) لشركة فودكو على طريق الإسماعيلية - بورسعيد عام ١٩٧٨م، والتي كانت مزروعة بالشمام والخيار (وتسبب بعض الأمراض الفيروسية التي تنتقل، أيضًا، بالبذرة مثل هذه الإصابة). كما تظهر أعراض المرض خاصة على الأشجار المعمرة بعد حدوث الإصابة ببضع سنوات، أيضًا.

مما سبق شرحه، يتضح أن تفاعلات الفيروس والنبات العائل والظروف البيئية، أيضًا، تؤدي دورًا مهما في إصابة Infectivity أي فيروس.

لذلك، فإنه من المهم دراسة مدى العوائل Host range، أي عدد النباتات وأنواعها وأصنافها التي يصيبها الفيروس المعين. ومن ثم، يجب إجراء هذا الاختبار بحيث يكون متضمنًا العديد من أجناس النبات، أو أنواعه، أو طرزه، أو سلالاته آخذًا في الاعتبار أن يضم أكبر قدر، أيضًا، من العائلات النباتية. وإذا كان

هـذا الفيروس معزولا من منطقة زراعية معينة، فإنه يستحسن دراسة مدى تأثير العوائل على نباتات هـذه المنطقة إضافة إلى النباتات المتعارف عليها في دراسة الفيروسات.

(١٣,٣) أعراض الأمراض الفيروسية

Symptoms of virus diseases

(١٣,٣,١) الأعراض الخارجية الكبيرة External (macroscopic)

(١٣,٣,١,١) موضعية Local

وتتميز هذه الأعراض بأنها جروح موضعية متباعدة Discrete local lesions، ومفصولة عن بعضها بعضًا، وتظهر عند موضع دخول الفيروس على الأوراق المصابة طبيعيًّا أو صناعيًّا. وتعد الجروح الموضعية ذت أهمية وفائدة في المعايرة الأحيائية للفيروس Biological assay. إذ يمكن بها حساب عدد الدقائق الفيروسية الحية المعدية Infectious، ومن ثم، يمكن تقدير عيارية Titer الفيروس، أو كميته الناتجة عن الصفات الأخرى. وعليه، فإن أشكال الجروح الموضعية الناتجة تختلف في أنواعها كما يلي:

١ – شاحبة الخضرة Chlorotic:

إذ قد تكون بيضاء تمامًا، أو ذات ظل باهت Pale shade من اللون الأخضر (أخضر باهت) مثل تبرقش بنجر السكر Sugar beet mosaic، وفيروس نخر التبغ Tobacco necrosis virus (TNV) على *Chenopodiun amartnticolor* و *C. quinoa* على الترتيب.

٢ – خضراء Green:

وفي هذه الحالة، تكتسب البقع أو الجروح الخضراء التي تظهر على الأوراق المصابة مزيدًا من اللون الأخضر، أكثر من الأنسجة المحيطة بها كما هو الحال بالنسبة لفيروس تقزم الطماطم الشجيري Bushy stunt virus.

٣ – نخرية Necrotic:

عادة ما تكون خلايا هذه الجروح الموضعية متميزة بأن خلاياها تموت، ومن ثم، فإنها تعطي جروحا تقرحية، أي من أنسجة ميتة تصبح مثل جلطة الدم فوق جروح الحيوان والإنسان، أو أنها تتآكل وتنخر الأنسجة. وتختلف هذه الجروح ما بين تلك الصغيرة الحجم جدًا التي لا تتجاوز في قطرها رأس الدبوس Pin point areas، وجروح مبرطشة ومفروشة غير منتظمة Irregular ، مثل التي يحدثها فيروس نخر التبغ TNV على الفاصوليا Beans والتبغ.

٤ – البقع الحلقية Ring - spots:

وهذه البقع الموضعية تتكون من مجموعة مركزية من الخلايا الميتة قريبًا من السطح المحقون، وبعد ذلك تنشأ واحدة أو أكثر من الحلقات المركزية Concentric من خلايا ميتة يتبادل معها فيما بينها أنسجة خضراء عادية. مثال ذلك فيروس تبرقش البرسيم الحجازي Alfala mosaic virus (AMV) على التبغ، وفيروس التبغ الحلقي في الطماطم Tomato ring spot virus، وفيروس التبغ الحلقي في التبغ Tobacco ring spot virus.

٥ – الجروح النشوية Starch lesions:

وهذه الجروح أو البقع الموضعية لا يمكن أن ترى Invisible بالعين المجردة على الأوراق المصابة التي تبدو ظاهريًا كأنها سليمة، ولكن، عند حفظ هذه الأوراق في الظلام لمدة ليلة ثم نزْع الكلوروفيل منها بوساطة الكحول، فإنها تصطبغ باللون الأزرق أو الأزرق البنفسجي عند إضافة اليود إليها. وتكتسب الجروح الموضعية لونًا أزرقًا بنفسجيًا أعمق من باقي الخلفية Background. مثال ذلك الأوراق الفلقية Cotyledonary leaves للخيار Cucumber المصاب بفيروس تبرقش التبغ TMV.

(١٣,٣,١,٢) الأعراض الجهازية أو العامة Systemic or generalized symptoms:

يطلق على الإصابة الجهازية Systemic اسم إصابة جهازية عامة Generalized، وذلك لأن الأعراض لا تكون عادة، محصورة على أماكن دخول

الفيريونات؛ إذ إن الفيروسات التي تخترق العائل عادة ما تتكاثر إلى فيريونات تنتقل وترحل إلى مساحات مختلفة من النبات المصاب. كما أن الإصابة الجهازية تعطي، أيضًا، أعراضًا على الأعضاء التي تتكشف حديثًا.

وفيما يلي الأنماط المختلفة للأعراض الجهازية:

(أ) التبرقش Mosaic:

يعد التبرقش واحدًا من أهم أعراض الأمراض الفيروسية في أغلب فيروسات النبات. والتبرقش هو ظهور مساحات خضراء داكنة وخضراء فاتحة Dark and pale green areas على الأوراق المصابة. كما أنه قد يتميز بزيادة اليخضور Chlorophyll في مساحات غير منتظمة عن مساحات أخرى على الورقة نفسها، أو بنقص اللون الأخضر في أماكن عن باقي الأماكن الأخرى التي تكون درجة الاخضرار فيها عادية.

وفي النباتات ذات الفلقتين، يظهر التبرقش كبطش (رقع) غير منتظمة Irregular patches قد تكون ظلالاً خضراء قاتمة أو شاحبة أو خضراء مصفرة، مثل فيروس تبرقش التبغ TMV على التبغ، أو فيروس التبرقش الأصفر في اللفت Turnip yellow mosaic virus (TYMV) على الكرنب الصيني Chinese cabbage. أما مصطلح تخفت اليخضور Mottling، فإنه يشير إلى حالة يكون فيها التبرقش غير واضح، وأن الفرق بين ألوان مساحات التبرقش يكون غير حاد التباين. كما أن الأوراق المصابة بتخفت اليخضور تبدو، للوهلة الأولى، غير مختلفة عن الأوراق العادية. ويلاحظ ذلك بكثرة في نباتات الياسمين والزفر *Clerodendron enermis* المنتشر كنباتات أسوار وغيرها.

ومن أعراض التبرقش، أيضًا، ما يسمى روقان العروق Vein clearing، أو اصفرار العروق Vein yellowing. وفي الحالة الأولى، تكبر خلايا العروق فتتضخم على حين لا تتغير أعداد البلاستيدات الخضراء أو كمية الكلوروفيل، وأنها تتوزع في مساحة أكبر، فإن درجة اللون تصبح باهتة أو رائقة بالنسبة لعروق النباتات السليمة

أو بالنسبة للون الأخضر في نصل الورقة الذي يشبه في ذلك لون البالّونة الذي يخفت عند نفخها. وهذا ما يسمى، أيضًا، شحوبًا يخضوريًا Chlorosis. ومن أمثلة ذلك فيروس العرق الكبير في الخس Lettuce big vein virus وفي فيروس البرسيم الحجازي (AMV) في الخيار.

أما في تحزم العروق Vein banding، فإن اللون الأخضر يتراكم Accumulates في العروق بطريقة غير عادية، ويصبح لونها أغمق من باقي النصل. ويبدو تحزم العروق واضحًا في فيروس تبرقش القرنبيط Cauliflower mosaic virus.

أما في النباتات ذات الفلقة الواحدة، فإن أعراض التبرقش تتكشف على صورة خطوط Streaks من المساحات الصفراء أو الخضراء الباهتة التي تتبادل مع مساحات ذات لون أخضر عادي مثل فيروسات تبرقش النرجس Narcissus mosaic virus والتبرقش المخطط في القمح Wheat streak mosaic والتبرقش المخطط في الشعير Barley stripe mosaic virus. كما أن عرض التزركش Variegation، وهو ما يسمى بكسر اللون Colour break، أيضًا، حالة من حالات التبرقش نتيجة للأمراض الفيروسية خاصة في أوراق الغلاف الزهري Perianth أو بتلات الأزهار. مثال ذلك فيروس تبرقش التيوليب Tulip mosaic virus. أما فيروس التثألل المبرقش في البسلة Pea enation mosaic virus، فإنه يعطي تخطيطا Streaks على بتلات أزهار بسلة الزهور *Lathyrus odoratus* المصابة.

كما أن التزركش يمكن أن يظهر على قصرة بذور ذوات الفلقتين، أيضًا، وبصفة خاصة، عندما تكون مصابة بأمراض فيروسية معينة. ويمكن أخذه دليلاً للاشتباه على أن هذه البذور المزركشة، على عكس طبيعتها، وربما تكون مصابة من الداخل بالفيروس وناقلة له.

ومما تجدر الإشارة إليه أن التزركش نوع من التبرقش الذي تقل فيه صبغات النبات غير الكلوروفيلية (مثل صبغة الأنثوسيانين Anthocyanin) أو تزداد كمية هذه الصبغة، مثل فيروس إضافة اللون في التيوليب Tulip-color-adding virus.

(ب) الاصفرار Yellows:

إن الفيروسات المسببة للاصفرار في النبات ليست في شيوع الفيروسات المسببة للتبرقش ولو أنها تشكل نسبة كبيرة، أيضًا، بين فيروسات النبات.

وثمة ما تجدر الإشارة إليه، وهو أن كثيرًا من مسببات الأمراض الأخرى غير الفيروسات قد تؤدي إلى حدوث اصفرار، كذلك تسبب زيادة الماء أو نقص بعض العناصر كالمغنيسيوم أو الرش بالمبيدات اصفرارًا. ومن صور الاصفرار أن يظهر، أولاً، في العروق مؤديًا إلى ما يسمى روقانًا Vein clearing، كما قد يحدث اصفرار يتبعه اصفرار عام منتشر في كل الورقة، وربما في كامل النبات.

وكذلك يمكن أن يقتصر الاصفرار، أيضًا، فقط، على حواف الورقة Margins كما هو الحال بالنسبة لفيروس اصفرار الحافة في الفراولة Strawberry yellow edge virus. ويعد الاصفرار ثاني الأعراض التشخيصية في الأمراض الفيروسية بعد التبرقش.

(جـ) البقع الحلقية Ring-spots:

تظهر البقع الحلقية كموجات Waves من دوائر Circles ذات شحوب يخضوري Chlorotic أو ميتة Dead، كما أنها قد تكون بسيطة Simple أو متحدة United. مثال ذلك فيروس البقع الحلقية في التبغ Tobacco ring spot virus.

(د) النخر Necrosis:

يعني النخر موت Death الخلايا أو الأعضاء أو كل النبات المصاب. كما قد ينشأ النخر كمساحات صغيرة منتظمة (نمشية) Flecks أو غير منتظمة (لطخ) Patches من أنسجة ميتة. كما أنها قد تسير مع العروق كلما انتقل الفيروس وتحرك. ويلاحظ ذلك في حالة فيروس نخر التبغ TNV على أوراق أنواع معينة من الفاصوليا خاصة عندما يجيء الحقن على عرق. كذلك فإن فيروس البطاطس واي (PVY) وفيروس البطاطس إكس (PVX) يعطيان خطوطًا Streaks متفرقة على الساق التي تنتشر بسرعة إلى القمم النامية Growing points مسببة موت القمة الذي يعقبه موت النبات كله وانهياره Collapse.

(هـ) تقزم النمو Stunting of growth:

يعني التقزم Dwarfing اختزالاً كبيرًا في معدل النمو. كما أنه يرتبط ارتباطًا وثيقًا ومباشرًا بفقد اليخضور والكلوروفيل، وكذلك منظمات النمو Growth regulators. ويؤدي التقزم إلى اختزال حجم الأوراق والأزهار والثمار وقصر الأعناق والسلاميات، فتتقارب كثيرًا وتتضاءل بحيث يكون النبات قريبًا جدًا من سطح الأرض. وربما يتعدى التقزم واختزال النمو المجموع الخضري، ويصل إلى الجذور فتقل كفاءتها في توصيل المياه والأملاح المعدنية، وإذا كان الأمر كذلك، فإن مثل هذه الفيروسات تؤدي إلى نقص شديد في المحصول الخضري وخلافه، وأيضًا، في إنتاج الثمار والبذور، مثال ذلك فيروس التبرقش الأصفر المتقزم في الذرة Maize yellow dwarf mosaic viurs. وإذا حدث أن لقحت Pollinated أشجار الكريز Cherry السليمة بحبوب لقاح Pollen grains مصابة بفيروس الكريز المصفر المر (الحامض) Sour cherry yellow virus، فإنه يؤدي إلى اختزال في عقد الثمار Fruit setting وبذا تصبح الثمار ضامرة. ومما تجدر الإشارة إليه أن بعض المعامل في أمريكا وأوربا والشرق الأوسط قد أدت أبحاثها إلى تطوير سلالات فيروسية أكثر شراسة، بحيث تصيب محاصيل معينة ذات قيمة اقتصادية مهمة. ومن بينها ما تتركز إصابته في الثمار أو في البذور أو في كليهما. وعندما تصيبها هذه الفيروسات، فإنها لا تظهر أعراضًا لفترة طويلة جدًا قد تمتد حتى بداية الإزهار Flowring أو الإثمار Fruiting وعندئذ، إما أن تتقزم الأزهار أو الثمار ومن ثم، فلا تعقد الثمار. وتكون الخسارة فادحة؛ لأن المحصول تكون تكلفته وتكلفة مقاومة الأمراض التي ظهرت في نهاية نموه باهظة وفادحة (مثل ما حدث عام ١٩٨٨م في زراعات الخيار والكانتالوب بصوبات بمصر) وإما أن التقزم قد يؤدي، مثلا، إلى النمو الشجيري Bushy أو العنقودي Bunchy المتزاحم أو المتقارب مما يشبه الوريدة Rosette في مظهرها. فعلى سبيل المثال، فيروس القمة الشجيرية في الطماطم Tomato bushy top virus، وفيروس الخوخ الوريدي Peach rosette virus.

(و) بعض أنواع النمو الشاذ Other growth abnormalities.

تختلف أنواع التشوهات والنمو الشاذ في النباتات المصابة بالفيروس (ماثيوز ١٩٩١م) وذلك كما يلي:

١ – تشوه الورقة والثمار Distortion of leaf and fruits: مثل فيروس تبرقش الكوسة Squash mosaic virus.

٢ – تجعد Curl أو كشكشة Crinckle الأوراق: مثل فيروس تجعد الورقة في التبغ Tobacco leaf curl الذي يسبب تجعد الأوراق لأعلى Upward وأيضًا، فيروس تبرقش الكاسافا Cassava mosaic virus من الفيروسات التوأمية Geminivirus.

٣ – التفاف الورقة Leaf roll:

فقد يحدث التفاف الأوراق المصابة للداخل Inward مثل فيروس التفاف الأوراق في البطاطس Potato leaf roll، وفيروس التفاف أوراق الكوسة Squash leaf roll، والذي تم عزله من مصر لأول مرة من حقول بمنطقة بلبيس عام ١٩٨٩م من بذور كوسة مستوردة لأول مرة من أمريكا.

٤ – انتفاخ الساق Stem swelling:

مثل فيروس انتفاخ الساق في الكاكاو Cocoa swollen shoot virus.

٥ – بقاليل Blisters:

وهي مساحات مرتفعة Raised areas على سطح الورقة العلوي مثل فيروس تبرقش الكوسة SqMV على الكوسة والشمام Cantalope، وفيروس تبرقش التبغ TMV على التبغ.

٦ – امتدادات النمو (التآلل) Enations:

وهي تمثل امتدادات للنمو غير منتظمة Irregular protrusions تمتد من أحد سطحي الورقة أو خاصة من العروق مثل فيروس تبرقش امتدادات النمو في البسلة Pea enation mosaic virus.

٧ – السرطان Tumors (الدرنات Galls):

هي انتفاخات ورمية سرطانية على أعضاء النبات: مثل فيروس السرطان الجرحي Wound tumor virus على جذور البرسيم الحلو Sweet clover.

٨ – الورقة الخيطية أو السرخسية Filiform or fern leaf:

وفيها يحدث إما تكوين امتدادات خيطية رفيعة في قمة النصل أو جوانبه نتيجة لاختزال النصل بدرجة كبيرة مثل فيروس تبرقش الخيار CMV سلالة جيزة-١ على الكوسة (حسين وشرف ١٩٨٧م). وإما أن يحدث اختزال تام للنصل فلا يبقى إلا العرق الوسطي والعروق الجانبية، فتعطي مظهر الورقة السرخسية مثل الإصابة المضاعفة Double infection من فيروس تبرقش التبغ TMV، وفيروس تبرقش الخيار CMV على نبات الطماطم.

٩ – الأعراض التي تظهر على الثمار Fruit symptoms:

وقد وصفها شوكت في كتابه "فيروسات النبات": ونوجزها فيما يلي:

(أ) عدد الثمار: فتسبب، غالبًا، انخفاضًا كبيرًا في عدد الثمار، ولكن ذلك يتوقف على نوع الفيروس والنبات. فعلى سبيل المثال، تنعدم الثمار أو تكون قليلة بسبب مرض العروق الصفراء في العنب Grape yellow vein disease. على حين يقل على أشجار الكمثرى المصابة بمرض تقزم البرقوق Prune dwarf disease.

(ب) حجم الثمار: معظم الفيروسات تسبب ضمورًا في حجم الثمار مثل مرض كرمشة أوراق القطن Cotton leaf crumple. وينتج عن إصابة البطيخ بفيروس تجعد القمة في بنجر السكر Sugar beet curly top virus صغر حجم البذور ونقص في نسبة السكر.

(جـ) شكل الثمار: يسبب فيروس تبرقش الخيار EMV في الخيار تشوهًا في الثمار. وفي مرض التشقق النجمي في التفاح Star crack of apple تشقق الثمار على شكل نجمة، وتكون الشقوق جافة، وأحيانًا عميقة.

(د) لون الثمار: تسبب الفيروسات، غالبًا، تغييرًا في ألوان الثمار إذ يسبب فيروس ذبول الطماطم المبقع Tomato spotted wilt virus تلون ثمار الطماطم بلون أصفر مبرقش، وقد يسبب موت الأنسجة تحت البشرة فتظهر خارجيا على شكل حلقات بنية. ويحدث فيروس تزركش اللون في قرون الفاصوليا Bean pod mottle virus قرونًا مبرقشة وأكثر خضرة وأقصر من القرون السليمة.

(هـ) تركيب الثمار: يسبب فيروس ثآليل الخوخ Peach wart virus أن تكون الثمار ليفية أو جلدية.

(و) عدد البذور في الثمار: ينتج عن فيروس اختزال البذور في الطماطم Tomato aspermy virus اختزالاً شديدًا في عدد البذور، وكذلك في فيروس تبرقش القمح Wheat mosaic virus.

كما تسبب بعض الفيروسات أعراضًا تظهر على المجموع الجذري.

(١٣,٣,٢) الأعراض الداخلية (المجهرية) Internal (microscopic symptoms):

يقصد بالأعراض المجهرية تلك الأعراض التي تحدث داخل النبات ولا ترى بالعين المجردة، ولكنها إصابات وأعراض خلوية ونسيجية تشمل التركيب الدقيق الداخلي للأنسجة والخلايا والمحتويات الخلوية.

وتشمل هذه الشذوذ النسيجية Histological abnormalitis التالية:

(١٣,٣,٢,١) نخر الخلايا أو موتها Necrosis:

يتكشف اللحاء Phloem في حالة فيروس التفاف الورقة في البطاطس، تكشفًا عاديًا لكنه يقتل وينتشر النخر في النبات، فقط، في اللحاء. ويكون نتيجة ذلك ترسيب Deposition الكالوز Callose الذي يقفل الأنابيب الغربالية Sieve tubes في اللحاء، ويمكن الكشف عن ذلك بوساطة أزرق ريزورسين Resorcin blue. كذلك

فإن فيروس البطاطس واي PVY يسبب تهدل Drop البطاطس نتيجة تقرح الخلايا الكولنشيمية Collenchyma على طول العروق وموتها.

(١٣,٣,٢,٢) قلة انقسام الخلايا Hypoplasia:

ويعني ذلك إما النقص في حجم الخلايا وإما النقص في أعدادها بالأوراق التي تظهر عليها أعراض التبرقش. وتظهر غالبًا في خلايا المناطق الصفراء أو الخضراء الباهتة خاصة، كما أن خلايا النسيج المتوسط للورقة Mesophyll تكون أقل في العدد وفي التكشف، وكذلك في الفراغات الهوائية بين الخلوية Air intercellular spaces.

(١٣,٣,٢,٣) زيادة الخلايا Hyperplasia:

يُسبِّب بعض الفيروسات زيادة شاذة في عدد الخلايا، وهذا مانطلق عليه زيادة الخلايا Hyperplasia. ففيروس تضخم الساق في الكاكاو Cocoa swollen shoot virus، ينتج كميات شاذة من أنسجة الخشب Xylem لكن تركيب الخلايا يبدو عاديًا. كذلك، فإن فيروس السرطان الجرحي Wound tumor virus الذي يصيب البرسيم الأرجواني Crimson يؤدي إلى تكوين شاذ لخلايا كمبيوم اللحاء Phloem cambium. أما فيروس فيجي لقصب السكر Figi sugar cane virus، فإنه يسبب سرطانًا على السطح السفلي للأوراق نتيجة للتكشف الشاذ لأنسجة اللحاء. ويعد فيروس التثألل المبرقش في البسلة Pea enation mosaic virus مثالاً ثانيًا.

(١٣,٣,٢,٤) تضخم الخلايا Cell enlargement:

يحدث في بعض أنواع الإصابات الفيروسية أن تتضخم الخلايا القريبة من العروق بطريقة غير عادية، مما يؤدي إلى حدوث ظاهرة تسمى روقان العروق Vein clearing. ويرجع النقص في اللون الأخضر إلى توزيع الكمية الثابتة المحدودة من البلاستيدات الخضراء في الخلايا المفرودة المتضخمة.

(١٣,٣,٢,٥) الشذوذ الخلوي Cytological abnormalities:

مثال ذلك تغير حجم حبيبات النشا Starch grains وعددها في خلايا الورقة. ففي أمراض التبرقش (فيروس التبغ TMV على الخيار)، يوجد عادة كمية أقل من النشا مقارنة بالنباتات غير المصابة. وعلى الرغم من ذلك، فإن فيروس تجعد القمة في البنجر Sugar beet curley top وفيروس التفاف الورقة في البطاطس Potato leaf roll، يسببان تراكم Accumulation حبيبات النشا بصورة مفرطة Excessive.

(١٣,٣,٢,٦) تغيرات في البلاستيدات الخضراء Alterations of chloroplasts:

إن الخلايا الحافية Peripheral cells في الجروح الموضعية التقرحية المتوسعة Expanding wounds والناتجة عن فيروس تبرقش التبغ على نوع من نبات التبغ *Nicotiana glutinosa* تؤدي إلى توزع شذى (ستروما)Stroma البلاستيدة الخضراء وتشتتها Disperse أولاً. ثم تتأثر بعدها الجرانا Grana والصفائح الغشائية Lamellae التي تصبح محببة Amorphous مؤدية إلى تحلل Disintegration للبلاستيدة الخضراء.

(١٣,٣,٢,٧) تغيرات في النواة Alterations of nucleus:

نجد في المثال السابق أن مادة أرضية Ground material النواة تختفي أولاً.

(١٣,٣,٢,٨) تغيرات في السيتوبلازم Alterations of cytoplasm.

ويشمل ذلك تجمع Aggregation المحتويات السيتوبلازمية، ويصبح السطح البيني Interface بين السيتوبلازم والفجوة غير واضح Obscure. أما إذا نميت هذه النباتات المصابة في الظلام عند درجة ٢٦° م، فإن بقعًا خضراء داكنة تتكون بدلاً من الجروح الموضعية، وتكون محتوية على العديد من المثانات Vesicles والأغشية المندمجة Fused membranes.

(١٣,٣,٢,٩) تكوين الأجسام المحتواة Developing of inclusion bodies:

تبدو هذه الأجسام المحتواة بالمجهر الضوئي إما كأجسام محببة Amorphous (أجسام إكس X-bodies)، وإما كأجسام متبلورة Crystalline bodies. وتعرف الأجسام (المحتويات) الداخلية بأنها مكونات غريبة نشأت نتيجة للإصابة الفيروسية. وتسبب بعض فيروسات الإنسان والحيوان والحشرات أجسامًا محتواة (لا تحدث في البكتيريا المصابة بالفيروس). وكان أول من سجلها هو ريفولتا Revolta عام ١٨٧٦م في أنسجة الكتاكيت المصابة بفيروس جدري الدجاج Fowlpox. لكن أول من وصفها في فيروسات النبات هو إيفانوفيسكي Iwanovisky عام ١٨٩٢م في نباتات التبغ المصابة بفيروس تبرقش التبغ TMV.

ويتراوح حجم الأجسام المحتواة مابين ٥ - ٣٠ ميكرومترًا، أي أنها أكبر حجمًا من الدقائق الفيروسية، وقد لا يزيد حجمها عن حجم النوية.

وقد توجد الأجسام المحتواة في السيتوبلازم أو في النواة، فقط، أو في كليهما. كما يتوقف تكوين الأجسام المحتواة على الفيروس المسبب أكثر من اعتماده على العائل المصاب. مثال ذلك تكوين هذه الأجسام في خلايا النباتات المصابة بفيروس تبرقش التبغ TMV، على حين يتعذر رؤيتها في هذه النباتات نفسها عند إصاباتها بفيروس تبرقش الخيار CMV، على الرغم من أن مظاهر الإصابة الخارجية بالفيروسين تكاد تكون متشابهة.

الأجسام الداخلية البلّورية Crystalline inclusion bodies:

تسبب الإصابة ببعض الفيروسات أجسامًا محتواة بلّورية تختلف في أشكالها على حسب نوع الفيروس والسلالة، ويمكن تميز هذه الأنواع منها:

١ - صفائح سداسية غير منتظمة Irregular hexagonal plates.

٢ - بلّورات متساوية الأضلاع Isometric crystals.

٣ - بلّورات مغزلية Spindle-shaped.

٤- بلّورات إبرية Needle-shaped crystals.

٥- بلّورات أنبوبية Tubular-shaped crystals.

وفي عـام ١٩٧٧م، قسـم مارتيـللي وراسـو Marteli and Raso المحتويـات الداخلية كما يلي:

١ - أجسام محتواة نووية Nuclear inclusions:

مثل المـواد المتراكمـة بـالنواة نتيجـة للإصابـة بفـيروس التـبرقش الأصفـر في البنجر Beet yellow mosaic virus (BYMV)، والأشكال البلّورية التي تسببها بعض سلالات فيروس التبرقش الأصفر في الفاصوليا Bean yellow mosaic virus (BYMV)، كذلك توجد في السائل النووي Nucleoplasm، مثل فيروس تبرقش البنجر Beat mosaic virus. على حين تتكون بين الغشاءين النوويين Perinuclear كما في فيروس التـبرقش المثألل في البسـلة Pea enation mosaic virus (PEMV)، وفـيروس التفـاف أوراق البلارجونيم Pelargonium leaf curl virus (PeLCV).

٢ - أجسام محتواة سيتوبلازمية Cytoplasmic inclusions:

تتكون داخل السيتوبلازم، وتسببها معظم المجموعات الفيروسية، وهي إما تكون بلّورية، وإما عديمة الشكل Amorphous.

وقد قسّما الأجسام المحتواة، أيضًا، على حسب طبيعة مكوناتها إلى:

(أ) تجمعات للجزيئات الفيروسية، وتقسم إلى:

١ - ليفية أو شبه بلّورية Fibrous or paracrystalline مثل فيروسات مجموعة البطاطس - إكس PVX.

٢- بلّورية: Crystalline، مثل مجموعة فيروسات تبرقش التبغ والتي تكون بلّورات سداسية شفافة، إذ تظهر في القطاعات عالية الرقة بالمجهر الإلكتروني على هيئة طبقات من دقائق الفيروس في ترتيب متوازٍ وكل طبقة لها عمق بطول جزيء فيروسي واحد.

(ب) تتكون أساسًا من أنواع من البروتين: والتي تنقسم إلى:

١ - الأجسام عديمة الشكل Amorphous bodies :

مثل التي تسببها الإصابة المبكرة بفيروس تبرقش البرسيم الحجازي الأصفر (AYMV) والتي تظهر في القطاعات عالية الرقة المفحوصة بالمجهر الإلكتروني أشكالاً مستديرة مملوءة بتراكيب عديمة الشكل. كما توجد، أيضًا، في الأوراق المصابة بفيروس التفاف قمة بنجر السكر (SBCTV) حيث تبدو في شكل تجمعات توجد أحيانًا بجوار النواة وتحاط الأجسام المحتواة بخيوط الشبكة البلازمية الداخلية.

٢ - الأجسام الاسطوانية أو البريمية Cylindrical or pinwheel bodies :

والتي يمكن ملاحظتها عند فحص قطاع عالي الرقة بالمجهر الإلكتروني فتبدو كأجسام اسطوانية أو بريمية ثلاثية الأبعاد مثل: مجموعة فيروسات البطاطس - واي PVY (فيروس حفر التبغ Tobacco etch virus (TEV) وفيروس تبرقش البطيخ Watermelon mosaic virus (WMV). وقد لوحظ ارتباط الأجسام البريمية بالبلازمودزماتا مما يرجح أن لها دورًا تنظيميًا في مرور دقائق الفيروس من خلية لأخرى.

(جـ) أجسام صفائحية Laminated bodies:

تتكون هذه الأجسام المحتواة البروتينية على شكل حزم لصفائح بروتينية متعددة الطبقات تشاهد في الإصابة بفيروس البطاطس - واي PVY وقد ترتبط ببعض دقائق الفيروس في بعض المناطق الحبيبية. وقد تكون هذه المناطق محببة، إذ ترى بالمجهر الإلكتروني، ويوجد منها ثلاثة أنواع هي:

١ - صفائح لا يختلط بها فيروس.

٢ - صفائح تدخل بين طبقاتها جزيئات الفيروس.

٣ - صفائح ملساء تحتوي على عديد من الجزيئات الفيروسية.

(د) أجسام محتواة، هي تجميع المكونات الخلوية:

وهذه التجميعات للمحتويات الخلوية تنتج عن الإصابة الفيروسية التي تحدث خللاً في تنظيم المكونات الخلوية مثل البلاستيدات الخضراء والمقتدرات الميتوكوندريا (Mitochondria). وقد وجد هاريسون (١٩٧٠م) أجسامًا داخلية في النباتات المصابة بفيروس تخفيت اللون في التبغ (TMV)، إذ تبدأ الأجسام الداخلية بتجميع المقتدرات (Mitochondria) ذات التركيب الشاذ، ويعد فيروس تخفت اللون الأخضر في الخيار Cucumber green mottling virus (CGMV) ، مثالاً آخر. أما فيروس التبرقش الأصفر في اللفت (TUMV)، فإن الأجسام المحتواة الداخلية فيه تكون على شكل تجمعات من البلاستيدات الخضراء.

(هـ) أجسام محتواة من مواد فيروسية مختلطة بمكونات خلوية:

ويمكن فحصها بالمجهر الضوئي وتتكون، غالبا، بجوار النواة.

الفصل الرابع عشر

تقسيم فيروسات النبات
Classification of Plant viruses

إن التقسيم أو التصنيف، كما هو معروف بالنسبة للعلوم الأحيائية، عمومًا، هو عبارة عن تجميع الوحدات الأحيائية تبعًا لتشابهاتها واختلافاتها. وهدف التصنيف هو تأسيس نظام في التباين وتوفير رؤية للعلاقات المتبادلة. ولتقسيم الفيروسات النباتية أهمية عملية عظمى. فعندما يُكتشف فيروس جديد ويكون ذا علاقة بمجموعة فيروسية نعرف الكثير عنها، فإن مثل هذه المعلومات تفيد في التنبؤ بعلاقته البيئية، وأيضًا، مجموعة الناقلات التي تقوم بنقله في الحقل وهكذا.

ويبنى التقسيم العادي (الموحد Monothetic) على أساس تجميع الكائنات في سلاسل ذات تسلسل هرمي Hierarichally لمجموعة من الأقسام المتابعة الصارمة (الأنواع Species، فالجنس Genus، فالعائلة Family، فالرتبة Order، فالقسم Class.. وهكذا). وكل قسم متتابع يبنى على واحد أو أكثر من الخصائص المنتخبة، والتي تكون فريدة لهذه المجموعة. وللأسف الشديد، فعند تطبيق نظم التصنيف التقليدية، فإنها فشلت في إعداد نظام سليم لتقسيم الفيروسات حتى إن التسمية اللاتينية الثنائية Latin binomial nomenclature قد فشلت، أيضًا، في التطبيق على الفيروسات.

وقد كانت معظم محاولات التقسيم في الأطوار المبكرة لعلم الفيروسات صناعية، في أغلبها، وكانت مرتبطة، في معظمها، بنظام التسمية. وحيث إنه لم يكن معروفًا الشيء الكثير عن هذه الوحدات الفيروسية المراد تقسيمها، لذلك اعتمد تجميعها على أساس صفات قليلة، وبالذات الأعراض Symptoms والعوائل Hosts

والناقلات Vectors. وبالتقدم في معرفة الفيروسات، اقترح برانديس وويتر Brandes and Wetter عام ١٩٥٩م نظامًا لتجميع فيروسات النبات الخيطية والعصوية على أساس الشكل الظاهري للدقيقة الفيروسية، وعلى أساس حجمها وعلاقاتها المصلية Serological affinities. والفيروسات التي جُمِّعت بهذا الشكل تشاركت في بعض الخواص الأحيائية مثل مجموعة الناقلات Vectors والثبات Stability والنوعية المصلية لدقائقها.

وفي عام ١٩٦٢م، اقترح لوف وزملاؤه Lwoff et. al, نظامًا هرميًّا موحدًا للتقسيم مبنيًّا على الصفات الجوهرية للفيريونات Intrinsic properties of the virions، وفي هذا النظام، كان نوع الحامض النووي في الدقيقة (ح ن د أو ح ن ر =DNA or RNA والبناء المعماري لتماثل الدقائق الفيروسية Architecture of symmetry ووجود أو غياب الغلاف Envelope من أهم الصفات التي تم التقسيم على أساسها. وقد دُعِمَ هذا النظام عند تأسيس اللجنة الدولية لتسمية الفيروسات وتقسيمها.

وفيما بعد، قسم جيبس Gibbs عام ١٩٦٩م الفيروسات النباتية على أساس متعدد المسالك Polythetic باستخدام عديد من الصفات ذات الوزن والأهمية المتساوية. ومع أن هذا النظام قد طبق باستخدام الحاسوب، لكنه لم ينجح. أما كريبتوجرام Cryptogram (انظر الفصل الثاني عشر)، فقد ظلت مجموعة من العلماء تعضده لفترة.

وأخيرًا أدخل نظام يلقى إجماعًا، تقريبًا، لتقسيم الفيروسات النباتية مبنيًا على مقترحات جيبس وهاريسون Gibbs and Harrison (١٩٨٠م) وبوس Bos (١٩٨٣م) وستيفنز Stevens (١٩٨٣م) وهو كما يلي:

(١٤,١) تقسيم الفيروسات النباتية بناء على مقترحات جيبس وهاريسون

(١٤,١,١) فيروسات طويلة حلزونية من ح ن ر مفرد (Elongated, helical,ss-RNA)

(١٤,١,١,١) صلبة Rigid.

(أ) وحيدة الدقيقة Monopartite.

١ - فيروسات توبامو Tobamoviruses (٣٠٠ × ١٨ نانومترًا).

(ب) عديدة الدقائق Multipartite .

١ - فيروسات هورديو Hordeovirus (١٤٨ × ٢٢ نانومترًا).

٢ - فيروسات توبرا Tobraviruses (١٩٠ × ٢٦ نانومترًا).

٣ - فيروس تبرقش القمح المتولد من التربة Soil borne wheat mosaic (٢٥٠ - ٣٠٠ × ١٨ نانومترًا).

٤ - فيروس تكتل الفول السوداني Peanut clump (٢٤٥ × ١٤ نانومترًا).

(١٤,١,١,٢) منثنية Flexious (كلها وحيدة الدقيقة):

١ - فيروسات بوتكس Potex viruses (٤٨٠ - ٥٨٠ × ١٣ نانومترًا.

٢ - فيروسات بوتي Poty viruses (٧٢٠ - ٩٠٠ × ١١ نانومترًا).

٣ - فيروسات كارلا Carla viruses (٦١٠ - ٧٠٠ × ١٢ نانومترًا).

٤ - فيروسات كلوستيرو Clostero viruses (١٢٥٠ - ١٤٥٠ × ١٢ نانومترًا).

(١٤,١,٢) متساوية الأضلاع Isometric.

(١٤,١,٢,١) ح ن ر مفرد الخيط Single - stranded RNA.

(١٤,١,٢,٢) وحيدة الدقيقة Monopartite.

١ - فيروسات تايمو Tymoviruses (٢٨ نانومترًا).

٢ - فيروسات توملس Tombus viruses (٣٠ نانومترًا).

٣ - فيروسات سوبيمو Sobemo viruses (٢٨ نانومترًا).

٤ - فيروسات نخر التبغ Tobacco necroses virus (٢٦ نانومترًا): مجموعة وحيدة النوع Monotypic group.

٥ - فيروسات ليوتيو Luteo viruses (٢٠ - ٢٤ نانومترًا).

٦ - فيروسات ماكلو Machlo viruses (٣٠ نانومترًا).

(١٤,١,٢,٣) متعددة الدقائق Multipartite.

١ - فيروسات كومو Como viruses (٢٥ - ٣٠ نانومترًا).

٢- فيروسات نيبو Nepo viruses (٢٨ - ٣٠ نانومترًا).

٣ - فيروس التبرقش المتألل في البسلة Pea enation mosaic virus (٢٨نانومترًا) مجموعة وحيدة النوع.

٤ - فيروسات ديانثو Diantho viruses (٣١ - ٣٤ نانومترًا).

٥ - فيروسات كيوكومو Cucumo viruses (٢٦ نانومترًا).

٦ - فيروسات برومو Bromo viruses (٢٦ نانومترًا).

٧ - فيروسات هارفي Harvi viruses (٢٦ - ٣٥ نانومترًا).

(١٤,١,٢,٤) مغلفة Enveloped:

١ - فيروس الذبول المبقع في الطماطم : Tomato spotted - wilt virus مجموعة وحيدة النوع.

٢ - ح ن ر مزدوج الخيط Double - stranded RNA.

فيروسات ريو Reo viruses.

(أ) فيروسات ريو النباتية Phytoreo viruses (٧٠ نانومترًا).

(ب) فيروسات فيجي Fiji viruses (٧١) نانومترًا).

٣ - ح ن د مفرد الخيط Single - stranded DNA.

الفيروسات التوأمية Gemini viruses (٢٨ - ٣٠ نانومترًا).

٤ - ح ن د مزدوج الخيط Double - stranded DNA.

فيروسات كوليمو Caulimo viruses (٥٠ نانومترًا).

(١٤,١,٣) عصوية باسيللية (شكل الرصاصة) Bacili form (Bullet - shaped).

(أ) بدون غلاف.

١ - فيروس تبرقش البرسيم الحجازي Alfalfa mosaic virus (مجموعة وحيدة النوع).

(ب) مغلفة Enveloped.

١ - فيروسات رابدو Rhado viruses (٢٠٠ × ٣٥ × ٧٥ - ٩٥نانومترًا).

(١٤,٢) تجميع فيروسات النبات

Grouping of Plant Viruses

على الرغم من أن تقسيم فيروسات الإنسان والحيوان والحشرات والبكتيريا قد وصلت شأنًا عاليًا، إلا أنه أمكن تقسيمها إلى أجناس وعائلات، وأن علماء فيروسات النبات استمروا في استخدام مجموعات Groups واسعة ومفككة التحديد. إلا أن عددًا من فيروسات النبات التي تتكاثر في الحشرات الناقلة تعد وثيقة التشابه مع فيروسات معينة تصيب الفقاريات والحشرات. وهذه الفيروسات الحيوانية / النباتية تعدُّ الآن أفرادًا في عائلات ريو Reoviridae ورابدو Rhabdoviridae. وتلك التي تتبع عائلة ريو قسِّمت إلى جنسين هما: فيروسات ريو النباتية Phytoreo viruses وفيروسات فيجي Fiji viruses (ماثيوز Matthews) ١٩٧٩م، ١٩٨٢م.

ويعتمد نظام تقسيم الفيروسات النباتية في الوقت الراهن على مفهوم المجموعة Group، ذات الخواص الأحيائية العامة. وتعترف اللجنة الدولية لتقسيم الفيروسات International Committee of Taxonomy of Viruses (ICTV) بهذه المجموعات التقسيمية للفيروسات النباتية. وتعتمد هذه المجموعات الـ ٢٦ على الشكل الظاهري للدقائق الفيروسية، وعلى تماثل الكابسوميرات وطبيعة المادة الوراثية. وسوف نذكر الخصائص التقسيمية لكل مجموعة باختصار (باسو وجيري، ١٩٩٣م) (Basu and Giri, 1993) والتي تضم نحو ٢٤٤ من الفيروسات النباتية على حين لاتزال باقي الفيروسات تنتظر ضمها إلى مجموعات تقسيمية.

(١٤,٢,١) مجموعات معترف بها من اللجنة الدولية لتقسيم الفيروسات ICTV.

(١٤,٢,١,١) مجموعة فيروس تبرقش البرسيم الحجازي Alfalfa mosaic virus group:

هي مجموعة وحيدة النوع يمثلها فيروس تبرقش البرسيم الحجازي AMV. والدقائق الفيروسية باسيللية غير مغلفة، يضم الفيريون أربعة أشكال وأحجام للدقائق. وعلى حين يكون عرضها ٧ نانومترات، إلا أن طولها يختلف من ٢٨ إلى ٣٥ نانومترًا وقد يصل إلى نحو ٦٠ نانومترًا. وينتقل الفيروس ميكانيكيًا بوساطة ناقل من المن بطريقة غير مباشرة. وينتقل بالبذرة في بعض العوائل، وقد ينتقل بحبوب اللقاح في البرسيم الحجازي Lucerne. ويشارك فيروس تبرقش البرسيم الحجازي الصفات الفيزيائية والكيميائية مع فيروسات إلار Ilarviruses (ثلاثية الدقائق)، ولكن على عكس فيروس تبرقش البرسيم الحجازي AMV، فإن فيروسات إلار ليس لها ناقل. وقد اقترح فان فولتين - دوتينج van Volten - Dolting وزملاؤه عام ١٩٨١م أن فيروسات برومو Bromo وإلار وكيوكومو Cucumo وفيروس تبرقش البرسيم الحجازي يجب أن تندمج معًا في عائلة سموها Tricornaviridae.

(١٤,٢,١,٢) مجموعة فيروسات برومو Bromorivruses : والنوع الممثل للمجموعة Type member:

هو فيروس تبرقش بروم Brome mosaic virus، ومن بين أفرادها: فيروس تزركش الفول Broad bean mottle، وفيروس التزركش اليخضوري في اللوبيا Cowpea chlorotic mottle. والدقائق الفيروسية إيكوزاهيدرالية قطرها ٢٦ نانومترًا. والجين (المورث = Genome) من ح ن ر من أجزاء ثلاثة في ثلاث دقائق. وتنتقل بالحقن الميكانيكي، وانتقالها بالبذرة. وبعض أفرادها ينتقل بوساطة الخنافس.

(١٤,٢,١,٣) مجموعة فيروسات كارلا Carla viruses: والنوع الممثل للمجموعة هو: فيروس القرنفل الكامن Carnation latent virus. وأفرادها: فيروس البطاطس إس Potato S، والبطاطس إم Potato M وفيروس تقرح العروق في الشمام

Muskmelon vein necrosis virus (Cantaloupe) وفيروس تخطيط البسلة Pea streak ، وفيروس تبرقش العروق في البرسيم الأحمر Red clover vein mosaic ، وفيروس تبرقش الحور Poplar mosaic ، والكاكتاس -٢ Cactus 2 ، وكريزانيتيمام ب Chrysanthmum B ، وحشيشة الدينار Hop mosaic ، والنرجس الكامن Narcissus latent ، وباسيفلورا الكامن Passiflora latent.

والدقيقة الفيروسية عصوية منحية قليلاً عند الطرفين طولها ٦٠٠ - ٧٠٠ وعرضها ١٢ - ١٥ نانومترًا. الجين (المورث) ح ن ر مفرد الخيط. ومعظم أفرادها ذات علاقة مصلية.

تنتقل بالعصير وبالاتصال وبوساطة المن بطريقة غير مباشرة ، أيضًا.

ومن الأفراد المحتملة : الخرشوف الكامن Artichoke latent ، والتبرقش المعتدل في كاشيا Cassia mild mosaic ، وتبرقش الثوم Garlic mosaic وتغضن الفول السوداني Groundnut crinkle.

(١٤,٢,١,٤) مجموعة فيروسات كوليمو Caulimo viruses: النوع الممثل فيروس تبرقش القرنبيط Cauliflower mosaic virus : وأفرادها : تبرقش الداليا Dahlia mosaic ، والحفر الحلقي في القرنفل Carnation etched ring ، وتحزم العروق في الفراولة Strawberry vein-banding ، وروقان العروق في البيتونيا Petunia vein-clearing ، وفيروس لسان الحمل Plantago virus ، وتزركش حسكة الشوك Thestle mosaic. ويتكون المورث (الجين = Genome) من جزيء واحد من ح ن د مزدوج الخيط d.s-DNA في دقيقة مفردة. وتنتقل الفيروسات بالحقن الميكانيكي ، ولكن ليس بالاتصال بين النبات أو النباتات. كما تنتقل ، أيضًا ، بالمن بطريقة غير دورانية Non-circulative.

(١٤,٢,١,٥) مجموعة فيروسات كلوستيرو Clostero viruses (يعني كلوستر = خيط / مغزل) :

والنوع الممثل Proto type : هو فيروس اصفرار البنجر Beet yellow virus ، ومن أفرادها ترستيزا الموالح Citrus tristeza ، والتقزم الأصفر في البنجر Beet yellow

stunt ، واصفرار أورق الجزر Carrot yellow leaf ، واصفرار البرسيم Clover yellow ، وتنقر سيقان العنب Grapevine stem pitting ، واصفرار أوراق القمح Wheat yellow leaf ، والتبقع اليخضوري في أوراق التفاح Apple chlorotic leaf spot ، وفيروس تشقق ساق التفاح Apple stem grooving virus. وقد اقترح ميلن Milne عام ١٩٨٥م اثني عشر نوعًا فيروسيًا في هذه المجموعة.

ودقائق فيروسات كلوستيرو، وهي الأطول بين فيروسات النبات، يتراوح طولها مابين ١٢٥٠ - ١٤٥٠ نانومترًا (اصفرار البنجر) و ١٦٥٠ - ٢٠٠٠ نانومترًا (فيروس ترستيزا الموالح)، ومتوسط عرض الدقيقة الفيروسية ١٠-١٢ نانومترا. ويعد وجود حزم بالعرض Cross bandings على مسافات متساوية من العصي المنثنية Flexuous صفة مميزة لهذه المجموعة. وتنتقل الفيروسات بالعصير وبالناقل من المن بطريقة غير مباشرة. لكن فيروس اصفرار الخيار Cucumber yellows ينتقل بوساطة الذبابة البيضاء أو بالبق الدقيقي كما في فيروس العنب أ Grapevine A virus. ويتكون المورث (المجين = Genome) من ح ن ر مفرد الخيط ss-RNA.

(١٤,٢,١,٦) **مجموعة فيروسات كومو Comoviruses**: تضم هذه المجموعة ١٢ فردًا يمثلها فيروس تبرقش اللوبيا Cowpea mosaic virus ، ومن بين أفرادها : فيروس تزركش قرون الفاصوليا Beanpod mottle ، وفيروس العروق الغائرة في الفاصوليا Bean rugose virus ، وفيروس صبغ الفول Broad bean stain ، وفيروس التبرقش الحقيقي في الفول Broad bean true mosaic ، وفيروس تبرقش فول الصويا Glycine mosaic ، وفيروس التبرقش المعتدل في البسلة Pea mild mosaic ، وفيروس تبرقش بسلة السمان Quail pea mosaic ، وفيروس تبرقش الفجل Radish mosaic ، وفيروس تزركش البرسيم الأحمر Red clover mottle ، وفيروس تبرقش الكوسة Squash mosaic وفيروس تزركش بطاطس أندين Andean potato mottle ، وفيريونات الفيروس متعددة الدقائق من اثنتين، كل دقيقة إيكوزاهيدرالية قطرها ١٨ نانومترًا والمورث (المجين) من ح ن ر مفرد الخيط s.s RNA. وتنتقل الإصابة ميكانيكيًا ولكن ليس بالاتصال بين النباتات. كما

تنتقل، أيضًا، بالبذرة ويشيع انتقالها بالخنافس ماعدا فيروس ذبول الفول Broad bean wilt virus الذي ينتقل بوساطة المن.

(١٤,٢,١,٧) مجموعة فيروسات كيوكومو Cucumoviruses: النوع الممثل هو فيروس تبرقش الخيار Cucumber mosaic virus. ومن أفرادها: فيروسات تقزم الفول السوداني Peanut stunt، وفيروس عدم تكوين البذور في الطماطم Tomato aspermy virus، والفيريونات متعددة الدقائق. والمورث (الجين) من ح ن ر مفرد الخيط s.s-RNA. يتكون كل فيريون من ثلاث دقائق وقد يكون من أربع. وهذه الفيروسات الثلاثة متباعدة العلاقات المصلية. تنتقل الفيروسات ميكانيكيًا وبالعديد من أنواع المن بطريقة غير مباشرة. كما تنتقل، أيضًا، بالبذرة إلى نحو يصل إلى ٥٠٪ أو أكثر.

(١٤,٢,١,٨) فيروسات ديانثو Dianthoviruses:

النوع الممثل: فيروس التبقع الحلقي في القرنفل Carnation ringspot virus. وتضم فيروس التبرقش النخري في البرسيم الأحمر Red clover necrotic mosaic virus، وفيروس التبرقش النخري في البرسيم الحلو Sweet clover necrotic mosaic virus.

(١٤,٢,١,٩) مجموعة الفيروسات التوأمية Gemini viruses group:

النوع الممثل هو فيروس تخطيط الذرة Maize streak virus، ومن بين أفرادها فيروسات: التبرقش الذهبي في الفاصوليا Bean golden mosaic virus، وفيروس تبرقش الكاسافا Cassava mosaic virus، وفيروس تبرقش الشحوب اليخضوري المخطط Chlorosis striated mosaic virus، وفيروس التبرقش الذهبي في الطماطم Tomato golden mosaic virus، وفيروس تجعد القمة في اللفت Beet curly top virus، وفيروس التقزم الأصفر في التبغ Tobacco yellow dwarf virus، وفيروس تجعد الأوراق في التبغ Tobacco leaf curl virus، وفيروس التجعد الأصفر في أوراق

الطماطم Tomato yellow leaf curl virus ، وفيروس تشوه الأوراق في القرع المر Bitter gourd leaf distortion virus ، وفيروس تبرقش يوفوربيا Euphorbia mosaic virus. وكل فيريون يتكون من دقيقتين توأمتين كلتاهما إيكوزاهيدرالية ، وقطرها ١٨ - ٣٠ نانومترًا. والجين (المورث = Genome) من ح ن د مفرد الخيط دائري Circular s.s-DNA. وتنتقل معظم هذه الفيروسات بوساطة الذباب الأبيض ، على حين أن فيروس تخطيط القمح Wheat streak virus ، وفيروس تبرقش الشحوب اليخضوري ينتقلان بوساطة نطاط الأوراق Leafhoppers.

(١٤,٢,١,١٠) فيروسات هوردي Hordeiviruses:

والنوع الممثل لهذه المجموعة هو فيروس التبرقش المخطط في الشعير Barley stripe mosaic virus. والفيريون متعدد الدقائق مكون من ٣ دقائق عصوية صلبة. المورث من ح ن ر مفرد الخيط s.s-RNA ، وتضم المجموعة فيروسين آخرين ، هما : فيروس التبقع الحلقي في ليكنيس Lychnis ringspot virus، وفيروس بوا شبه الكامن Poa semi latent. والفيروسات الثلاثة متباعدة مصليًا ، وتختلف في العديد من الخواص الأحيائية (جاكسون وآخرون ١٩٨٩م).

(١٤,٢,١,١١) فيروسات إلار Ilar viruses:

النوع الممثل هو فيروس تخطيط التبغ Tobacco streak virus. ومن بين أفرادها فيروس تبرقش التفاح Apple mosaic virus ، وفيروس تخطيط البرقوق الدانماركي Danish plum line pattern ، وفيروس حشيشة الدينار أ Hop A virus ، وفيروس تبرقش الورد Rose mosaic virus ، وفيروس أوراق الموالح الغائرة Citrus leaf rugose virus ، وفيروس تبرقش الموالح Citrus variegation virus ، وفيروس تزركش الدردار Elm mottle virus ، وفيروس التزركش الحلقي في الليلاك Lilac ring mottle virus ، وفيروس تخطيط البرقوق الأمريكي American plum line pattern virus ، وفيروس تقزم

البرقوق Prune dwarf virus ، وفيروس التبقع الحلقي في البرقوق Prune ringspot virus ، (وهو يناظر فيروس التبرقش الغائر في الكريز Cherry rugose mosaic virus)، وفيروس حشيشة الدينار - ب Hop-B virus ، وفيروس السبانخ الكامن Spinach latent virus ، وفيروس تولار لتبرقش التفاح Tulare apple mosaic virus .

والدقائق الفيروسية متساوية الأضلاع قطرها ٢٦ - ٣٥ نانومترًا. والمورث من ح ن ر مفرد مجزأ s.s - RNA segmented genome في ثلاث دقائق Tripartite. والدقائق عرضة Labile لفقد الحيوية عندما تعرض في العصير.

وينتقل الفيروس ميكانيكيًا، ومن خلال البذرة وحبوب اللقاح.

(١٤,٢,١,١٢) مجموعة فيروسات ليوتيو Luteoviruses:

تعني Luteus = أصفر: النوع الممثل هو فيروس التقزم الأصفر في الشعير Barley yellow dwarf virus. ومن أفرادها: فيروسات: التفاف أوراق الفاصوليا Bean leaf roll virus ، وفيروس الاصفرار المعتدل في البنجر Beet mild yellowing virus ، والاصفرار الغربي في البنجر Beet western yellows virus ، وفيروس الأوراق الحمراء في الجزر Carrot red leaf virus ، وفيروس تقزم فول الصويا الإندونيسي Indonesian soybean dwarf virus ، وفيروس اصفرار البقوليات Legume yellows virus ، وفيروس اصفرار الخبيزة Malva yellows virus ، وفيروس التفاف أوراق البسلة Pea leaf roll virus ، وفيروس التفاف أوراق البطاطس Potato leaf yellow virus ، وفيروس اصفرار عنب الديب Solanum yellows virus ، وفيروس تقزم فول الصويا Soybean dwarf virus ، وفيروس الأوراق الحمراء للبرسيم الأرضي Subterranean clover red leaf ، وفيروس التقزم النخري للتبغ Tobacco necrotic dwarf virus ، وفيروس اصفرار اللفت Turnip yellows virus. الدقيقة الفيروسية إيكوزاهيدرالية قطرها ٢٥ نانومترًا. والمورث ح ن ر مفرد الخيط s.s-RNA genome. تنقل بالمن بطريقة مثابرة ولكن ليس ميكانيكيا.

(١٤,٢,١,١٣) مجموعة فيروسات ماكلو Machlo viruses:

وقد أنشأ بوسويل وجيبس Boswell and Gibbs هذه المجموعة عام ١٩٨٣م. والنوع الممثل: هو فيروس الشحوب اليخضوري المتقزم في الذرة Maize chlorotic dwarf virus: وأفراده فيروسات التنجرو متساوي الأضلاع في الأرز Rice tungro isometric virus: والدقائق إيكوزاهيدرالية متساوية الأضلاع قطرها ٣٠ نانومترًا. المورث (الجين = Genome) ح ن ر مفرد الخيط، وتنقل الفيروسات بوساطة نطاطات النبات ونطاطات الأوراق بطريقة شبه مثابرة.

(١٤,٢,١,١٤) مجموعة فيروسات نيبو Nepo viruses:

وتعني اختصاراتها: الفيروسات متعددة الأضلاع المنقولة بالنيماتودا Nematode transmitted polyhedral viruses -، ومن أفرادها: فيروسات: تبرقش أرابيس Arabis mosaic virus، وأراكاكا Arracacha، والخرشوف الإيطالي الكامن Artichoke Italian latent virus، والتبقع الحلقي الأصفر في الخرشوف Artichoke yellow ringspot virus، وتزركش أوراق التوت الأزرق Blueberry leaf mottle virus، والتفاف أوراق الكريز Cherry leaf roll virus، وفيروس تزركش شيكوريا Chicory yellow mottle virus، ونخر الكاكاو Cocoa necrosis virus، والفيروس الكامن في البرسيم القرمزي Crimson clover latent virus، والبلغاري الكامن Bulgraian latent virus، والتبرقش الملون في العنب Grapevine chrome mosaic virus، والأوراق المروحية في العنب Grapevine fan leaf virus، والتبقع الحلقي الكامن في البامية Hibiscus latent ringspot virus، والفيروس الكامن في البرسيم الحجازي الأسترالي Lucerne Australian latent virus ، والتبقع الحلقي في التوت Mulberry ring-spot virus، والتبقع الحلقي الكامن في مايروبالان Myrobalan latent ringspot virus، والتبرقش الوردي في الخوخ Peach rosette mosaic virus، والتبقع الحلقي الأسود في البطاطس Potato black ringspot virus، والتبقع الحلقي في توت العليق Raspberry ringspot virus، والحلقات السوداء في الطماطم Tomato black ring virus، والتبقع الحلقي في الطماطم Tomato ringspot virus.

والدقيقة الفيروسية متساوية الأضلاع قطرها ٢٨ نانومترا. والجين (المورث = Genome) ح ن ر مفرد s.s-RNA في جزءين ودقيقتين (متعدد الدقائق). وتنتقل هذه الفيروسات بالحقن الميكانيكي وليس بالاتصال بين النباتات. كما تنتقل، أيضًا، بالنيماتودا من أنواع لونجيدوراس *Longidorus* sp. أو زيفينيما *Xiphenima* sp.، وتنتقل، أيضًا، بوساطة البذور وحبوب اللقاح. ومعظم هذه المجموعة ليست ذات علاقات مصلية.

(١٤,٢,١,١٥) مجموعة فيروس التبرقش المثألل في البسلة Pea enation mosaic virus:

هو الفيروس الوحيد بالمجموعة ويصيب البقوليات في المناطق المعتدلة. وقطر الدقيقة الفيروسية الإيكوزاهيدرالية هو ٢٨ نانومترًا والفيريون من دقيقتين (متعدد الدقائق) ومورثه ح ن ر مفرد الخيط s.s RNA، يُنتقل ميكانيكيًا ولكن ليس عن طريق الاتصال بين النباتات، كما ينتقل بوساطة المن بطريقة مثابرة.

(١٤,٢,١,١٦) مجموعة فيروسات بطاطس إكس Potato X viruses:

ويمثلها فيروس البطاطس إكس Potatovirus x، ومن أفرادها فيروسات: تبرقش بوسنجولتيا Boussingaultia mosaic virus، والصبار إكس Cactus x virus، والتبرقش العادي في الكاسافا Cassava common mosaic virus، وكوميلينا إكس Commelina x virus، وتبرقش سيمبيديام Cymbidium mosaic virus، وتبرقش ذيل الثعلب Foxtail mosaic virus، والتبقع الحلقي في هايدرانجيا Hydrangea rinspot virus، والزنبق إكس Lily X virus، وتبرقش النرجس Narcissus mosaic virus، ونيرين إكس Nerine X virus، وتبرقش الباباي Papaya mosaic virus، وتبرقش بيبينو Pepino mosaic virus، والتزركش الشديد في لسان الحمل Plantago severe mottle virus، ولسان الحمل إكس Plantago x virus، وتزركش البنفسج، وتبرقش البرسيم الأبيض White clover mosaic virus. كما يوجد نحو ١٧ نوعًا محتملاً.

والدقيقة الفيروسية خيطية مرنة متوسط أبعادها ٤٧٠ × ١٣ نانومترًا. والمورث من ح ن ر مفرد الخيط s.s-RNA في دقيقة واحدة. وتنتقل الفيروسات بالحقن الميكانيكي وبالاتصال بين النباتات.

(١٤,٢,١,١٧) مجموعة فيروسات البطاطس – واي Potato viruses Y :

والفيروس الممثل هو فيروس البطاطس واي Potato virus Y (PVY). ومن بين أفرادها ٣٨ فيروسًا معترفًا بها، و ٥٠ محتملة. وتكون هذه المجموعة نحو ٣٠٪ من مجموع الفيروسات النباتية المسجلة. ومن أفرادها فيروسات: تزركش أوراق أمارانتاس Amaranthus leaf mottle virus، والتبرقش العادي في الفاصوليا Bean common mosaic virus، والتبرقش الأصفر في الفاصوليا (= تبرقش البسلة) Bean yellow mosaic virus، وتبرقش البنجر Beet mosaic virus، وتبرقش لوبيا العين السوداء Blackeye cowpea mosaic virus، وتزركش عروق القرنفل Carnation vein mottle virus، والأوراق النحيفة في الجزر Carrot thin leaf virus، وتبرقش الكرفس Celery mosaic virus، والعروق الصفراء في البرسيم (تقرح البسلة) Clover yellow vein virus، وتخطيط كوكسفوت Kocksfoot streak virus، وتبرقش كوميلينا Commelina mosaic virus، وتبرقش اللوبيا المنقول بالمن Cowpea Aphid-borne mosaic virus، ورباط الحذاء في الداتورا Datura shoe-string virus، وتبرقش البنج (السكران) Henbane mosaic virus، وتبرقش الخس Lettuce mosaic virus، والتقزم الأصفر في البصل Onion yellow dwarf virus، والتبقع الحلقي في الباباي Papaya ringspot virus، وفيروس تبرقش الجزر الأبيض Parsnip mosaic virus، وتخشب ثمرة الآلام Passionfruit woodiness virus، وتبرقش البسلة المنقول بالتربة Pea seed-borne mosaic virus، وتزركش الفول السوداني Peanut mottle virus، وتخطيط الفول السوداني Peanut stripe virus، وتزركش الفلفل Pepper mottle virus، والتبرقش الشديد في الفلفل Pepper severe mosaic virus، وتزركش العروق في الفلفل Pepper veinal mottle virus، وجدري البرقوق Plum pox virus، والبطاطس -أ Potato A virus،

وتبرقش قصب السكر (التبرقش القزمي في الذرة) Sugar cane mosaic virus، وحفر التبغ Tobacco etch virus، وكسر اللون في التيوليب Tulip breaking، وتبرقش اللفت Turnip mosaic، وتبرقش البطيخ -١ و-٢ Watermelon mosaic 1 and 2.

والدقيقة الفيروسية خيطية منثنية متوسط أبعادها: ٧٢٠ - ٩٠٠ × ١١ نانومترًا. والمورث (المجين Genome) ح ن ر مفرد الخيط ss.-RNA في دقيقة واحدة. وتستحث هذه الفيروسات الأجسام المحتواة البرعمية Pinwheel inclusions، على حسب الناقل. وقد قسمها ميلن Milne عام ١٩٨٥م إلى أربعة تحت مجموعات كما يلي:

تحت مجموعة ١ - المنقولة بالمن Aphid - transmitted.

تحت مجموعة ٢ - المنقولة بالفطريات Fungus-transmitted.

تحت مجموعة ٣ - المنقولة بالحلم Mite-transmitted.

تحت مجموعة ٤ - المنقولة بالذباب الأبيض Whitefly-transmitted.

(١٤,٢,١,١٨) فيروسات ريو Reoviruses:

وهي تتبع عائلة ريو Reoviridae التي من بين أجناسها الستة يوجد جنسان يصيبان النبات هما جنس فيروسات ريو النباتية Phytoreoviruses، وجنس فيروسات فيجي Fijiviruses.

(أ) فيروسات ريو النباتية Phytoreoviruses: وتحتوي هذه المجموعة على فيروسين نباتيين هما فيروس السرطان الجرحي Wound tumour virus، في البرسيم الحلو، وتقزم الأرز Rice dwarf virus. أما فيروس تضخم الأرز المتقزم Rice gall dwarf virus، فهو فرد محتمل. ويتكون الفيريون من دقيقة فيروسية واحدة متساوية الأبعاد قطرها ٧٠ نانومترًا. وللغطاء طبقتان، الصدفة الأولى شوكية، كما يتكون المورث (المجين = Genome) من ١٢ قطعة من ح ن ر مزدوج الخيط d.s-RNA of 12 segments. وللفيروسات مدى عوائل Host range ضيق، وهي تسبب تقزمًا وتشوهًا.

وتنتقل هذه الفيروسات بنطاطات الأوراق Leaf hoppers، فقط. كما تنتقل، أيضًا، خلال بيض Tranovarially الناقل.

(ب) **فيروسات فيجي Fijiviruses**: وتضم ٩ فيروسات تقع في ثلاث مجموعات مصلية متباعدة. والفيروس الممثل لهذه المجموعة هو فيجي الذي يسبب مرض فيجي في قصب السكر، وهو غير ثابت، ليس وثيق الصلة بالفيروسات الأخرى. وتضم الفيروسات الأخرى: التقزم الخشن في الذرة Maize rough dwarf virus، ومرض تسرطن النجيليات Cereal tillering disease virus، وتقزم بانجولا Pungola stunt virus، والتخطيط الأسود القزمي في الأرز Rice black streak dwarf virus.

والفيروسات وحيدة الدقائق إيكوزاهيدرالية مطابقة لفيروسات ريو، وتتكون من مورث من ح ن ر مزدوج الخيط من ١٢ قطعة.

(١٤,٢,١,١٩) مجموعة فيروسات عائلة رابدو Rhabdoviridae:

تضم عائلة رابدو نحو ٣٩ فيروسًا يصيب النباتات، وشكل الدقيقة عصوي باسيللي أو تشبه الرصاصة، مقاساتها ٢٠٠ - ٢٥٠ × ٧٥ - ٩٥ نانومترًا. هي مغلفة بغشاء من الدهن والبروتين وتحتوي على محو ر حلزوني من ح ن ر مفرد الخيط s.s-RNA. وبعض الفيروسات تنتقل بالعصير والغالبية تنتقل بالمن أو نطاطات الورق، وواحد ينقل بالبق الشريطي Lace bugs، وواحد بالحلم Mites، وهي مثابرة ومتكاثرة في ناقلاتها.

وقد قسمها بوسويل وجيبس Boswell & Gibbs عام ١٩٨٣م إلى تحت مجموعتين: تحت مجموعة (ا): وتضم فيروس الاصفرار التقرحي في الخس Lettuce necrotic yellows virus، وفيروس الاصفرار التقرحي في البروكولي Broccoli necrotic yellows virus، والتبرقش المخطط في القمح Wheat striate mosaic virus، وجميع الفيروسات تحتوي على خمسة أنواع من البروتين.

تحت مجموعة (ب): وتضم فيروس التزركش المتقزم في الباذنجان Eggplant mottle dwarf virus، والشبكة الصفراء في سونكاس Sonchus yellow net virus، والعروق الصفراء في شوكة الحسك Sowthistle yellow vein virus.

(١٤,٢,١,٢٠) مجموعة فيروسات سوبيمو Sobemoviruses:

والفيروس الممثل هو فيروس تبرقش الفاصوليا الجنوبي Southern bean mosaic virus، ومن أفرادها فيروسات: تورد اللفت Turnip rosette virus، والتخطيط المؤقت في البرسيم الحجازي Lucerne transient streak virus.

والفيريون من دقيقة واحدة مكعبية قطرها ٢٨ -٣٠ نانومترًا، وتحتوي على ح ن ر مفرد الخيط s.s RNA. وتنتقل الفيروسات بالحقن الميكانيكي. كما تنتقل، أيضًا، بالبذور، وليس بالتربة أو بحبوب اللقاح. وتقوم الخنافس بدور الناقل بطريقة مثابرة.

(١٤,٢,١,٢١) مجموعة فيروس نخر التبغ Tobacco necrosis virus:

والنوع الممثل هو فيروس نخر التبغ Tobacco necrosis virus(TNV)، وأحد أفرادها هو فيروس نخر الخيار Cucumber necrosis virus. والفيريون أحادي الدقيقة الإيكوزاهيدرالية، وقطرها ٢٨ - ٣٠ نانومترًا. والجين (المورث = Genome) من ح ن ر مفرد الخيط s.s-RNA. وتنتقل بوساطة الحقن الميكانيكي. كما تنتقل، أيضًا، بفطريات التربة (الكتريدياالات Chytridiales) ولكن ليس عن طريق البذور أو حبوب اللقاح أو الناقلات الهوائية.

كما يعمل فيروس نخر التبغ كفيروس مساعد لفيروس مذنب Satellite virus. وفيروسا المجموعة لا تربطهما علاقة مصلية ولكنهما يتشاركان في معظم الصفات الأحيائية.

(١٤,٢,١,٢٢) مجموعة فيروسات توبامو Tobamo viruses:

النوع الممثل هو فيروس تبرقش التبغ (TMV) Tobacco mosaic virus. ومن أفرادها فيروسات: التبرقش المزركش الأخضر في الخيار Cucumber green mottle mosaic virus، وفيروس الخيار - ٤ Cucumber virus 4 ، والتبقع الحلقي في أودونتوجلوسام Odontoglossam ringspot virus، وتبرقش حشيشة الضلعة Ribgrass mosaic virus،

وتبرقش سنهمب Sunnhemp mosaic virus ، وتبرقش الطماطم Tomato mosaic virus ، وتبرقش التبغ يو٢ U2-tobacco mosaic virus.

الفيروس عصوي صلب وحيد الدقيقة أبعاده ٣٠٠ × ١٥ نانومترًا. المورث من ح ن ر مفرد الخيط s.s-RNA. وينتقل الفيروس بسهولة بوساطة العصير وبالاتصال. ويعضه ينتقل بالبذرة، ولكن الفيروس لا يغزو الجنين.

(١٤,٢,١,٢٣) مجموعة فيروسات توبرا Tobra viruses:

النوع الممثل هو فيروس خشخشة التبغ Tobacco rattle virus ومن بين أفرادها فيروسات: التلون البني المبكر في البسلة Pea early browning وفيروس تكتل الفول السوداني Peanut clump virus ، والفيريون من دقيقتين (متعدد الدقائق) العصوية الصلبة وأبعاد الدقيقة الطويلة ١٨٠ - ٢١٢ × ٢١ - ٢٢ نانومترًا، وأبعاد الدقيقة الصغيرة٤٦ - ١١٦ نانومترًا. وينتقل الفيروس بالحقن الميكانيكي وبواسطة الديدان الاسطوانية (النيماتودا)؛ ولكن ليس بحبوب اللقاح أو التربة، وكما تنتقل الفيروسات، أيضًا، بالتربة.

(١٤,٢,١,٢٤) مجموعة فيروس الذبول المبقع في الطماطم Tomato spotted wilt virus:

والمجموعة وحيدة النوع Monotypic ، يمثلها، فقط، فيروس الذبول المبقع في الطماطم. والفيروس وحيد الدقيقة متساوي الأضلاع مغلف يحتوي على ح ن ر مفرد s.s-RNA. وقطر الدقيقة ٨٥ نانومترًا.

وينتقل الفيروس بالحقن الميكانيكي، ولكن ليس بالاتصال بين النباتات، كما لا ينتقل بالبذرة أو التربة أو حبوب اللقاح، ولكنه ينتقل بوساطة التربس بطريقة مثابرة.

(١٤,٢,١,٢٥) مجموعة فيروسات تومباس Tombusviruses:

النوع الممثل لها هو فيروس التقزم الشجيري في الطماطم Tomato bushy stunt virus. ومن بين أفرادها فيروسات: التجعد المزركش في الخرشوف Artichoke mottled

crinkle، والتبقـع الحلقـي الإيطـالي في القرنفـل Carnation Italian ringspot، والتبقـع الحلقي في سمبيديام Cymbidium ringspot، والتجعـد المزركـش في الباذنجان Eggplant mottled crinkle، وتجعـد أوراق بلارجونيـام Pelagornium leaf crinkle، والتـبرقش النجمي في بيتونيا Petunia asteroid mosaic.

والدقـائق الفيروسـية مفـردة قطرهـا ٣٠ نانومـترًا، وتحتـوي علـى ح ن ر مفـرد s.s-RNA. وتستحـث هـذه الفيروسـات تكويـن الأجسـام المحتـواة الـتي يكـون لهـا قيمـة تشخيصية. وتنتقل الفيروسات ميكانيكا وبالبذرة وبالتربة، ولكن ليس بوساطة حبـوب اللقاح.

(١٤,٢,١,٢٦) مجموعة فيروسات تايمو Tymoviruses:

النوع الممثل هو فـيروس التبرقش الأصفـر في اللفـت Turnip yellow mosaic virus. ومن أفرادهـا فـيروس بطـاطـس أنديـن الكـامن Anden potato latent، وتزركـش السيـدة الحسنـاء Belladonna mottle، والتبرقـش الأصفـر فـي الكاكـاو Cocoa yellow mosaic، وتزركش دلكامارا Dulcamara mottle، وتبرقش الباذنجان Eggplant mosaic، وإريسيمام الكامن Erysimum latent، والتبرقش الأصفر في كينيديا Kennedya yellow mosaic، وتبرقش البامية Okra mosaic، والتبرقش الأصفر في أونونيس Ononis yellow mosaic، والتبـرقش الأصفر في الفـول السـوداني Peanut yellow mosaic، وتـبرقش فيساليس Physalis mosaic، وتزركش لسان الحمـل Plantago mottle، وتبرقش حنـك السبع Scrophularia mosaic، وتبرقش الخيار البري Wild cucumber mosaic.

والفيريون وحيد الدقيقة الإيكوزاهيدراليـة الـتي قطرهـا ٣٠ نانومـترًا. ويحتـوي على مورث من ح ن ر مفرد الخيط s.s-RNA وتنتقل الفيروسات بالحقن بالعصـير، كمـا تنتقل بالبذرة وليس بحبوب اللقاح أو التربة.

وتوجد فيروسات أخرى لا تـزال تنتظر موافقـة اللجنـة الدوليـة علـى التقسـيم لوضعها في المجموعات المناسبة.

الفصل الخامس عشر

فيروسات النبات وانتشارها

Transmission and Spread of Plant Viruses

من المعروف أن الفيروسات النباتية هي طفيليات إجبارية داخل خلوية، إذ تقتل عوائلها غالبًا. لذا، فإنه من الضروري أن تنتشر من نبات لنبات وأن تقدم إلى خلايا حية. ويتم النقل أو الانتشار في الفيروسات النباتية بواحدة أو أكثر من الطرق الآتية:

١ - الانتقال الميكانيكي Mechanical transmission.

٢ - الانتقال بالإكثار الخضري Vegetative propagation transmission.

٣ - الانتقال بالحشرات والحلم Insect and mite transmission.

٤ - الانتقال بوساطة حبوب اللقاح Pollen transmission.

٥ - الانتقال بالبذور Seed transmission.

٦ - الانتقال بالفطريات Fungal transmission.

٧ - الانتقال بالديدان الأسطوانية (النيماتودا) Nematode transmission.

٨ - الانتقال بالحامول Dodder transmission.

وكل هذه الوسائل المختلفة في الفيروسات وانتشارها بين النباتات السليمة من مصادر العدوى تحدث طبيعيًا دون تدخل الإنسان على حين أنها تستخدم، أيضًا، تجريبيًا ومعمليًا.

(١٥,١) الانتقال الميكانيكي Mechanical transmission:

ويحدث ذلك عن طريق: (أ) الاتصال Contact بين النباتات أو (ب) بفعل الحيوانات، ولكن دون أن يحدث أي تفاعل أحيائي أو تخصص و (جـ) بفعل الإنسان إما عرضًا، وإما لأغراض تجريبية.

(أ) الاتصال المباشر: إذ يحدث الانتقال الميكانيكي عن طريق اتصال النباتات وخاصة في النباتات المصابة جهازيًا Systemically infected. إذ يغزو الفيروس معظم الأنسجة ويوجد في خلايا البشرة، بما فيها شعيرات الأوراق والسيقان، ونتيجة لتلامس النباتات، فإن الشعيرات وخلايا البشرة قد تتكسر فيتحرر الفيروس وينتقل إلى الخلايا المكسورة بالمثل على النباتات السليمة.

وتعد فرصة انتقال الفيروسات بهذه الطريقة أعظم مع الفيروسات التي توجد بتركيزات عالية في العصير الخلوي Cell sap، خاصة تلك النباتات الأكثر عرضة للتجريح والتي تكون شديدة القابلية للعدوى. وينتشر فيروس البطاطس - إكس (PVX) في محاصيل البطاطس بهذه الطريقة. وقد وجد روبرتس Roberts في عام ١٩٤٦م أن فيروس البطاطس - إكس ينتشر، أيضا، بين النباتات التي تتصل ببعضها، فقط، تحت سطح التربة، إذ يحتمل الانتقال عندما تحتك الجذور المريضة بالجذور السليمة، أما في النباتات الخشبية، فإن جذور النباتات المتجاورة يحدث لها - أحيانا - أن تتطعم Grafted معًا، إذ سُجِّل انتشار فيروس تبرقش التفاح Apple mosaic virus عن طريق مثل هذه الاتحادات (هنتروتشامبرلين وأتكينسون Hunter, Chamberlain and Atkenson عام ١٩٥٨م).

كما أن استخدام الآلات والأدوات الزراعية في الحقل يعد عاملا مهمًا في نقل الفيروسات من النباتات المصابة إلى النباتات السليمة؛ إذ إن إطارات الجرارات الزراعية التي تمر بالحقول قد تتلوث بالفيروس نتيجة احتكاكها بنباتات مصابة. فإذا احتكت بعدها بنباتات سليمة، فإنها تنقل الفيروس إليها. إضافة إلى ذلك، يحدث النقل الميكانيكي للفيروسات من نباتات مصابة إلى العديد من الحشائش واستخدام المقصات والسكاكين والفؤوس في المعاملات الزراعية.

(ب) بوساطة الحيوانات: مثل الكلاب والذئاب والثعالب والأرانب والحمير والخيول والأبقار والأغنام والجاموس. فقد تنقل الفيروسات عندما تحتك بنباتات مصابة، ومن ثم، يكون جسمها ملوثًا، ثم تنقله إلى نباتات سليمة عندما يحدث لها تكسير أو عطب أو جروح. كما يمكن أن يتم النقل عن طريق الرعي Grazing. كما أوضح برودبنت Broadbent عام ١٩٦٣م أن الطيور تنقل فيروس تبرقش التبغ بهذه الطريقة.

وتقوم بعض الحشرات، مثل الخنافس الكبيرة والنطاطات Grasshoppers بنقل فيروسات مثل تبرقش اللفت، وتبرقش التبغ، وفيروس البطاطس - إكس بطريقة ميكانيكية بحتة.

(جـ) بوساطة الإنسان: إذ وجد أن فيروس البطاطس - إكس PVX يمكن أن يبقى حيًا على الملابس والأدوات والآلات الزراعية. ويذكر برودبنت عام ١٩٦٣م بأن عاملاً كان يرتدي ملابس العمل لمدة يومين أثناء مروره في حقل مصاب بفيروس تبرقش التبغ نقل الإصابة بين ملابسه عندما كان يعمل بين صفين من الأصص المزروعة بالطماطم لمدة ١٠ دقائق، إذ نتج عن ذلك إصابة ١٩نباتًا من مجموع ٢٠ نباتًا. ويمكن أن تظل الملابس الملوثة بفيروس تبرقش التبغ مصدرًا للعدوى، إذ يظل الفيروس حيًا لعدة أشهر.

ومن الطرق الشائعة للنقل الميكانيكي للفيروسات، أيضًا، ما يحدث عند نقل شتلات الخضروات مثل الطماطم أو الفلفل أو شتلات التبغ من المشتل (الحضنة Nursery) إلى الحقل. فإذا كانت أيدي العمال ملوثة من السجائر أو من مصدر آخر للفيروسات، فإن الفيروس سينتقل من أيديهم إلى الشتلات.

وتتميز الفيروسات التي تنتقل ميكانيكيًا بالطرق السابق ذكرها بأنها تصيب البشرة، وتكون بتركيزات كبيرة في العصير الخلوي، وذات ثبات شديد، إذ لا تتأثر كثيرًا بالظروف البيئية خارج خلايا النبات. ومن أمثلة ذلك فيروسات: تبرقش التبغ TMV، وتبرقش الطماطم ToMV، و.لبطاطس - إكس PVX، والبطاطس - واي PVY، وتبرقش الخيار CMV.

(١٥,١,١) النقل الميكانيكي التجريبي (الحقن الميكانيكي)

Experimental mechanical transmission (Mechanical inoculation)

نظرًا لأهمية الحقن الميكانيكي في الدراسات والبحوث الخاصة بتشخيص الأمراض الفيروسية، وللتعرف على الأصل الفيروسي Viral aetiology للمرض، فإنه من الواجب إعطاء فكرة واضحة عن هذه التقنيات، كما تستخدم، أيضًا، في عزل الفيروسات وفي التعرف عليها. ولهذا الغرض إما أن يستخدم عصير خام Crude extract من أنسجة النباتات المصابة. وإما عصير منقى جزئيًا Partially purified. وإما منقى Purified حتى الحامض النووي النقي، سواء ح ن د DNA أو ح ن ر RNA. ويتم الحقن الميكانيكي لحقن الفيروس Viral inoculum في أنواع عديدة من النباتات، بما فيها النبات الذي ظهر عليه المرض.

وكان أول من إستخدم التلقيح الميكانيكي هو أدولف ماير Adolf Meyer عام ١٨٨٦م، عندما سحب عصير نبات مصاب بتبرقش التبغ بوساطة أنبوبة زجاجية شعرية ثم حقن العصير في العروق الوسطى لأوراق نبات سليم. أما بيجيرنك Beijerink عام ١٨٩٨م فقد إستخدم المحقن Syringe للحقن بدلاً من الأنابيب الشعرية، وفي عامي ١٩١٣ و ١٩١٥م فقد استخدم كلينتون Clinton وألارد Allard طريقة مسح سطح الورقة لنبات تبغ سليم باليد أو الفرشاة الملوثة بعصير النبات المصاب، وكانت النباتات تصاب جهازيًا. وفي عام ١٩٢٩م، حقن هولمز Holmes نباتات تبغ من نوع *Nicotiana glutinosa* فنتج عن ذلك بقع أو آفات موضعية Local lesions لا تنتقل خارج موضع الإصابة، وكان عدد هذه الجروح يتناسب طرديًا مع تركيز الفيروس في العصير.

وقد طوّرت طريقة الحقن الميكانيكية لزيادة فعاليتها، وحسنت بملاحظة مايلي:

١ - يفضل مسح السطح العلوي لورقة النبات إما بملعقة زجاجية ذات وجه خشن. وإما بنهاية السبابة أو بالسبابة والوسطى معًا، أو بقطعة قماش أو شاش أو بفرشاة.

٢ - تغمس الأصابع أو قطع القماش أو الشاش في محقن الفيروس (يفضل أن يكون في هاون أو زجاجة ساعة أو طبق بتري). ويفضل المؤلف وضع كميات محددة (٥٠ - ٢٠٠ ميكرولتر) بوساطة ماصة دقيقة Micropipette وخاصة عندما يراد حساب عيارية الفيروس (عدد الفيريونات/مل بالمحقن).

٣ - قبل وضع محقن الفيروس على سطح الورقة المراد حقنها، يجب رش الأخيرة بمادة خادشة Abrasive كالصنفرة (كاربوراندام Carborundum = كاربيد السيليكون) أو سيلايت (Celite = تربة دياتومية) أو أكسيد الألومنيوم Aluminium oxide أو سيليكات المغنيسيوم Magnesium silicate. لأن عصير النبات يخرج مع المادة الخادشة فيسهل دخول الفيروس إلى خلايا النبات. ويجب أن تلاحظ الدقة والرقة والخبرة في عملية الحقن بحيث يكون ضغط المسح مناسبًا. كما يجب أن تكون أقطار جزيئات المادة الخادشة نحو ٤٠٠ - ٦٠٠ ميش Mesh.

٤ - بين هولمز عام ١٩٢٩م أن غسيل المحقن الفيروسي من على الأوراق المحقونة مباشرة بماء الحنفية أو بدورق الغسيل يزيد عدد الجروح الموضعية للفيروس عما لو كانت بدون غسيل. وقد أوضح ياروود Yarwood عام ١٩٥٥م بأن عملية الغسيل يجب ألا تتجاوز ٢٠ ثانية، ويزيل الغسيل بالماء المواد المثبطة للفيروس والتي توجد في العصارة النباتية خاصة التانينات والفينولات والإنزيمات.

٥ - وجد ثورنبري Thornberry عام ١٩٣٥م بأن محلول منظم الفوسفات Phosphate buffer (٠,١ عياري) المحضر فيه المستخلص النباتي لمحقن الفيروس قد سبب زيادة في بقع فيروس تبرقش التبغ المحقون على الأوراق الأولية للفاصوليا بمقدار ١٠ أضعاف تقريبًا.

٦ - عند حقن أعداد كبيرة من النباتات، يستخدم لذلك فرشة الفنانين الهوائية Artists airbrush، إذ يوضع المحقن الفيروسي والكربورانـدام بداخله ويملأ بالهواء المضغوط، وترش النباتات جملة. ويمكن التحكم في ضغط الجهاز وكمية المحقن الخارجية بتغيير فوهة الجهاز والمسافة بين الجهاز والنباتات.

(١٥,٢) الانتقال بالإكثار الخضري Vegetative propagation transmission:

يوجد الفيروس، تقريباً، في كل أعضاء النبات المصابة جهازيًا بالفيروس وأنسجتها، ولهذا السبب، فإن الأجزاء النباتية التي تؤخذ من هذه النباتات المصابة للتكاثر الخضري سوف تحتوي على الفيروس ومن ثم، ينتج عنها عدوى. ولهذا السبب ينصح مربو البطاطس بألا يخزنوا درنات البطاطس بغية استخدامها تقاوى ولكنها تستخدم تقاوى بوساطة الهيئات الزراعية المسؤولة. وبالمثل، يجب العناية والحذر عند إكثار الفراولة والقرنفل والكريزانثيمام والداليا من نباتات مريضة أو مشتبه بها.

ومما تجدر الإشارة إليه أن القمم المرستيمية للنباتات المصابة جهازيًا، مع ذلك، تكون خالية من الفيروس. وبمهارة وعناية خاصتين، يمكن إستخدام ظروف معقمة لعزل القمم النامية، إذ تنمى منها نباتات كاملة خالية من الفيروس.

والتكاثر الخضري هو إكثار النباتات باستعمال أعضاء النبات المختلفة عدا البذرة والذي يشمل أنواعًا عدة منها: التطعيم Grafting، والتبرعم Budding، والتعقيل Cutting، والترقيد Layering، والمدادات Runners والدرنات Tubers، والكورمات Corms، والبصيلات Bulbils، والرايزومات Rhizomes، والفسائل Offshoots، والسرطانات Suckers، وغيرها، وهي طرق زراعية شائعة خاصة مع البطاطس والبطاطا والقلقاس والبصل والثوم وقصب السكر. يضاف إلى ذلك إنتاج الشتلات لمعظم أشجار الفاكهة كالبرتقال واليوسفي والنخيل واللوز والعنب والموز علاوة على نباتات الزينة مثل الفل والورد والجلاديولس والنرجس والتيوليب وغيرها كثير.

فعند استعمال أجزاء مصابة من النباتات لغرض التكاثر الخضري سوف تكون النباتات النامية مصابة، أيضًا. كما أن نقل هذه الأجزاء المصابة من حقل لآخر أو من بلدة لأخرى أو من دولة إلى دولة ثانية أو من قارة لقارة أخرى يؤدي إلى نقل الفيروسات وانتشارها. وهذا ما حدث بالفعل عند استيراد تلك التقاوى من بلاد أوربية

إلى دول نامية لا تتوافر فيها إمكانات الحجر الزراعي أو تنقصها الكفاءات العلمية والفنية الخبيرة. فبالرغم من أن مصر استوردت أبصال الجلاديولاس من هولندا، إلا أنه حدث فقد ٩٠٪ وظهرت أمراض فيروسية كالتبرقش، وفيروس تبرقش الخيار عند زراعة الجلاديولاس الهولندي المدموغ "أنه خال من الفيروس". وحدث الشيء نفسه عندما استوردت شتلات فراولة من أوروبا وزرعت بمنطقة الإسماعيلية، فأعطت في السنوات الأولى إنتاجا طيبًا لكنه تدهور، وكذلك تدهورت المحاصيل الطبيعية الوطنية بعد أن انتشرت أمراض فيروسية كانت محمولة في شتلات الفراولة.

وتستخدم طرق التطعيم، تجريبيًا، لنقل الفيروسات ودراستها في المعمل خاصة الفيروسات التي يصعب نقلها بالطرق الميكانيكية إما أنها لا تتكاثر في خلايا البشرة وإما أنها غير ثابتة Unstable خارج أنسجة النبات التي تتكاثر فيه أو لأسباب أخرى غير معروفة. ومن هذه الطرق:

(١٥,٢,١) تركيب الطعم المنفصل Detached scion-grafting:

يؤخذ جزء صغير من فرع النبات المصاب (بضعة سنتيمترات) وتقطع نهايته على شكل وتد، ثم تدخل هذه النهاية في شق Cleft مائل في ساق أو قمة النبات المراد تطعيمه. ويجب: ١ - إزالة الأوراق الزائدة الموجودة على الطعم ماعدا القمة النامية لتقليل البخر، ٢ - أن يكون القطع في ساق الأصل بمنطقة برعم؛ لأن الساق يكون أجوف في المناطق الأخرى لبعض النباتات. ٣ - تربط منطقة التطعيم بشريط من المطاط أو النايلون لضمان التماس بين خلايا الكامبيوم في الطعم والأصل. ٤ - يوضع النبات المطعم في مكان رطب لعدة أيام بعد التطعيم. ٥ - يكون الطعم Scion هو الذي يحمل الفيروس وليس الأصل Stock. ٦ - تنجح هذه الطريقة في دراسة الأمراض الفيروسية للطماطم والبطاطس والتبغ.

وقد عرفت طريقة نقل الفيروسات بالتطعيم منذ زمن قديم، إذ استطاع بلاجريف Blagrave عام ١٦٧٥م توضيح التفاصيل الدقيقة لكسر اللون في الأزهار بعد

تطعيم الأبصال معًا، كما استطاع كين Cane عام ١٧٢٠م نقل حالة التزركش Variegation من الياسمين إلى ياسمين أبيض بوساطة التطعيم.

ويسمح التطعيم بالتقارب Approach grafting بين الأصل وطعم لا يزال متصلا بالنبات الثاني بحركة الفيروس بين أصناف متباينة جدًا، إذ يتم الاتحاد بين خلايا كالّلاس Callus التي تنتج عند السطوح المتلامسة. ويختلف ذلك عن التطعيم الأصلي الذي يتم فيه الاتحاد بين الأنسجة الوعائية عن طريق النشاط المتبادل للكمبيومات الوعائية. ويقتصر هذا النوع من الاتحادات الوثيقة على الأصناف النباتية وثيقة التقارب جدًا.

وقد ينتج عن التطعيم إنتاج أعراض مختلفة عن تلك التي تحدث عند الحقن بالعصير ميكانيكيًا. ففي حالة *Nicotiana glutinosa*، يستحث فيروس تبرقش التبغ TMV تكوين آفات موضعية Local lesions، ولا يحدث انتشار جهازي للفيروس مثلما يحدث نتيجة للحقن الميكانيكي بالعصير. وعند تطعيم نباتات متشابهة من الطماطم أو التبغ بنبات مصاب جهازيًا بفيروس تبرقش التبغ، يموت النبات السليم المطعم عليه، إذ ينتشر الفيروس جهازيًا محدثًا نخرًا Necrosis في الأوراق والبراعم. ومن المحتمل أن يحدث هذا التأثير بسبب أن الفيروس أدخل عن طريق الطعم إلى الأنسجة الوعائية لنبات الأصل. أو بديلاً لذلك، أن يكون قد دخل المزيد من الفيروس بالتطعيم أكثر مما يدخل عن طريق الحقن الميكانيكي. ويعد فيروس ترستيزا الموالح Citrus tristeza virus من أهم أمراض ثمار الموالح. ويسبب هذا الفيروس الذي يصيب البرتقال السكري أو البرتقال الحامض التي تنمو على جذورها الأصلية، وللأسف، أن البرتقال السكري عند تطعيمه من أجل إنتاج أفضل على الأصول الجذرية Root stocks للبرتقال الحامض، يقتل بوساطة فيروس ترستيزا الموالح. وتعد هذه الطريق أساسًا لاختبار وجود هذا الفيروس. وبهذا، فإنه يمكن الكشف عن فيروس ترستيزا الموالح في أشجار البرتقال السكري *Citrus sinensis* (Sweet orange) بتطعيم نباتاته على أصول جذرية من أشجار البرتقال الحامض (Sour orange) *C. aurantium*، إذ تذبل الأخيرة وتتهدل

وتموت. وبالمثل، اكتشف فيروس جدري البرقوق Plumpox virus ، في الأصل بتطعيم النباتات المشتبه فيها (انتشر هذا الفيروس في زراعات المشمش بالفيوم ١٩٨٨ - ١٩٨٩م وقضى على معظم الزراعات بها) على أشجار الخوخ. ولأن مثل هذه الاختبارات تحتاج وقتًا طويلا حتى تظهر نتائجها، لذا فقد حل محلها الاختبارات المصلية.

ونظرًا لاستخدام التطعيم على نطاق واسع تجاريًا لإكثار النباتات، لذا، فإنه قد يساعد في انتشار الأمراض الفيروسية خاصة في التفاح والكمثرى والبرقوق والكروم والموالح وأشجار الزينة وشجيرات الورد.

(١٥,٣) الانتقال بالحشرات والحلم Insect and mite transmission:

تعد الحشرات Insects والحلم Mites جزءًا من المفصليات Arthropods. وتشكل الحشرات المجموعة العظمى من الناقلات Vectors المفصلية للأمراض الفيروسية في النبات والحيوان والإنسان. ولو أن الحشرات الكبيرة التي تقرض الطعام يمكنها أن تنقل الفيروسات بطريقة ميكانيكية، ولكن نقل الفيروسات بوساطة أغلب الحشرات والأكارينا Acarina التي تضم الحلم يحدث بطريقة معقدة.

وقد لاحظ تاكاتا Takata (عام ١٨٥٩م) وتاكامي Takami (عام ١٩٠١م) بأن حشرتي القفاز *Inazuma dorsalis* و *Nephotettix cincticeps* تنقلان فيروس تقزم الأرز من النباتات المصابة إلى السليمة. وفي أمريكا، أعلن دوليتل Doolittle عام ١٩١٦م أن حشرة المن من نوع *Aphis gossypii* تعمل كناقل لفيروس تبرقش الخيار CMV .كذلك أعلن أورتفين بوتجيز Oortwijn Botjes في هولندا بأن حشرة المن من نوع *Aphis persicae* تنقل فيروس التفاف ورق البطاطس Potato leaf roll virus و (PLRV).

ومعروف - الآن - أن أكثر من ٤٠٠ نوع من الحشرات تنقل أكثر من ٢٠٠ نوع من الفيروسات المعروف معظمها يتبع عائلة المن Aphidiae ، ومن أشهر رتب الحشرات التي تعمل ناقلات للأمراض الفيروسية :

١ - رتبة نصفية الأجنحة (نصف الجناح جلـدي والنصـف الآخرغشـائي) Hemiptera : وتضم :

* البق الحقيقي مثل عائلة Piesmidae ومنها بق البنجر Beet bugs.
* المن Aphids ، والذي يتبع عائلة المن Aphididae.
* البق الدقيقي Mealy bugs ، والذي يتبع عائلة Coccidae.
* والذباب الأبيض White-flies ، والذي يتبع عائلة Aleyodidae.
* نطـاطـات الـورق والنبـات Leaf and plant hoppers ، والـتي تتبـع عائلـة Auchenorrhynca.

٢ - رتبة هدبية الأجنحة Thysanoptera ، ومن أمثلتها التربس Thrips.

٣ - رتبة غمدية الأجنحة كالخنافس Beetles ، وتضم عائلتين هما :

(أ) Chrysomelidae ، ويتبعها السوس وخنافس الأوراق Leaf beetles.

(ب) Curculionidae ويتبعها السوس Weevils.

وفيما يلي شرح لنقل الفيروسات بأمثلة من أنواع الحشرات السابق ذكرها :

(١٥,٣,١) المن Aphids:

تعرف حشرات المن ، عادة ، بالذباب الأخضر Greenflies أو بالذبـاب الأسـود Blackflies ، وهـي تمثل أكبر مجموعـة مـن الحشـرات الـتي تعمـل نـاقلات للأمـراض الفيروسية. والحشرات البالغة صغيرة (٢ - ٣ مم) ، وأحيانًا ، تصعب رؤيتها ، ولكنـها ذات قدرة تكاثرية هائلة إذ يوجد في الفدان الواحد المصاب ما يقرب مـن ٢٠٠٠ مليـون حشرة. والعديد من حشرات المن يعد آفات زراعية Agricultural pests بحد ذاتها ؛ لأنـها تتغذى بعصير النبات بامتصاصه من اللحاء. وبسبب طريقة التغذية هذه ، فـإن المن يعـد ناقلاً ناجحًـا للفيروسـات مـن خـلال تغذيته على العصـارة النباتيـة بـأجزاء فمـه الثاقبـة الماصة Piercing sucking والذي يتميز بوجود خرطوم طويل رفيع جـدًا تغرزه في نسـيج النبات الذي تتغذى عليـه فتمتـص العصـارة النباتيـة المحملة بالفيروس. كمـا يتميـز المن

بخاصية أخرى هي التكاثر اللاجنسي من نوع التوالد البكري Parthenogenesis وبأعداد كبيرة، كما يتكاثر جنسيا لفترة قصيرة تكفي لوضع البيض الذي له القدرة على مقاومة الظروف غير الملائمة خلال فترة الشتاء وتكوين أفراد مجنحة تتمكن من الطيران والانتقال إلى مسافات بعيدة.

وتنقسم الفيروسات التي تنتقل بوساطة المن إلى الأقسام الأربعة التالية:

(١,١,٣,١٥) فيروسات غير مثابرة Non-persistent viruses، وتتميز بما يلي:

١ - يمكن أن تنقل ميكانيكيًا علاوة على نقل المن لها.
٢ - معظمها يسبب أعراض التبرقش.
٣ - تنقل بوساطة أكثر من نوع من أنواع المن.
٤ - تكتسب الحشرة الفيروس من النبات المصاب خلال ١٠ - ٣٠ ثانية، وتستطيع عدوى نبات سليم خلال فترة مماثلة.
٥ - تجويع الحشرة لمدة ساعة قبل وضعها على النبات المصاب يزيد كثيرًا من قدرة الحشرة على نقل الفيروس.
٦ - فترة التغذية القصيرة Short acquisition feeding أفضل من فترة التغذية الطويلة، إذ إن الحشرات التي تعمل بخرطومها غرزات عديدة وقصيرة الأمد تنقل العدوى بكفاءة لمدة أطول من تلك التي تقوم بغرزة واحدة طويلة الأمد.
٧ - تفقد الحشرة قدرتها على إحداث العدوى بعد ساعة واحدة من تركها النبات الذي تغذت عليه.
٨ - عدد الفيروسات التي تنتقل بهذه الطريقة نحو مائة، معظمها تتبع مجموعة فيروسات البطاطس واي Potyviruses، مثل: التبرقش الأصفر في الفاصوليا Bean yellow mosaic، وتبرقش الخس Lettuce mosaic، وتبرقش قصب السكر Sugar cane mosaic، وتبرقش اللفت Turnip mosaic، وفيروس تبرقش البرسيم الحجازي AMV، وفيروسات أخرى من مجموعات فيروسية أخرى.

(١٥,٣,١,٢) فيروسات شبه مثابرة Semi persistent viruses:

ومن أمثلتها فيروس اصفرار بنجر السكر Beet yellow virus، وترستيزا الموالح Citrus tristeza virus التي تتميز بأن دقائق فيروساتها خيطية طويلة جدًا (١٠٠٠ - ٢٠٠٠ نانومتر)، وهي تصيب أنسجة اللحاء، وتتكاثر فيها مسببة اصفرار الأوراق. ولا تؤثر فترة التجويع على كفاءة الحشرة في نقل الفيروسات، كما أن فترة تغذيتها الطويلة تزيد من كفاءة الحشرة في النقل - علاوة على ذلك، تحتفظ الحشرة بقدرتها على نقل الفيروس لمدة ١ -٣ أيام. وتكون درجة تخصص الحشرة في نقل الفيروسات أكثر تطورًا عما هي في الفيروسات غير المثابرة.

(١٥,٣,١,٣) فيروسات مثابرة Persistent viruses:

مقارنة بالفيروسات غير المثابرة، فإن هذه الفيروسات لا تنتقل مباشرة بعد ابتلاعها بوساطة المن، ولكنها تبقى في فترة كمون Latent period يبقى بعدها المن فعالاً في نقل الفيروس لمدة طويلة، وفي بعض الحالات، طوال فترة حياته. ولا تفقد القدرة على العدوى بالانسلاخ Moulting.

كما لا يسهل إحداث العدوى ميكانيكيًا، وإنما تكتسب بعد فترة طويلة من التغذية. ويحدث ذلك لأن هذه الفيروسات توجد عميقة في أنسجة النبات خاصة في اللحاء. ويمكن للمن أن يكتسب كمية كافية من الفيروس ويصبح معديًا بعد ٥ - ١٥ دقيقة من التغذية، لكن الكفاءة في النقل تزداد مع زيادة التعرض لمصدر الفيروس. وقد تمر بعض الفيروسات كلية خلال الحشرة إلى الإخراج، ولكن، لكي يمكن نقل الفيروس، لا بد أن يمر بجدار المعي Gut من خلال تجويف الجسم المملوء بالدم (Haemocoel)، وأن يدخل الغدد اللعابية مثلها في ذلك مثل البعوض الذي ينقل بعض فيروسات الإنسان والحيوان. ويطلق على مثل هذه الفيروسات اسم دوارة Circulative. وربما يكون أخذ الفيروس غير نوعي، لكن جدار المعى يعمل كأول حاجز وموقع لنوعية دخول الفيروس إلى سائل الدم وأنسجة الجسم. وتمثل

فترة الكمون الوقت الذي يأخذه الفيروس ليدور في الدم حول الحشرة مثال انتقال فيروس التبرقش المثألل في البسلة Pea enation mosaic virus بوساطة *Acyrthosiphon*، و *Myzus persicae*، إذ تستطيع الحوريات Nymphs أن تكتسب الفيروس في ١٥ دقيقة، والحشرات المكتملة النمو في ١-٢ ساعة، إذ تستغرق فترة الكمون ٤-٧٠ ساعة اعتمادا على درجة الحرارة. وعقب فترة الكمون، يمكن أن تظل الحشرة محافظة على الفيروس بعد الانسلاخ لمدة ٣٠ يومًا، إذ يوجد الفيروس في بطانة المعى الأوسط Mid-gut. وتتناقص معدلات انتقال هذه الفيروسات الدوارة بفقدان الفيريونات من الحشرات.

ومن أمثلة هذه الفيروسات، أيضًا: فيروس التقزم الأصفر في الشعير Barley yellow dwarf virus، وفيروس الورقة الحمراء في الجزر Carrot red leaf virus.

(١٥,٣,١,٤) الفيروسات الدوارة – التكاثرية Circulative-propagative viruses:

وهنا، تتكاثر الفيروسات من خلال المن وغيره من الناقلات: ومن أمثلة ذلك فيروس النخر الأصفر في الخس Lettuce necrotic yellow virus، وفيروس اصفرار العرق في التفاف Sowthisle yellow vein virus، وفيروس الخنشير الأصفر Sonchus yellow virus، وكلها فيروسات عصوية باسيللية مغلفة تتبع العائلة العصوية Rhabdoviridae. وتتكاثر في كل من خلايا النبات وخلايا الحشرة، لهذا، فهي دوارة وتكاثرية.

وعند عمل قطاعات عالية الرقة في حشرة المن نوع *Hyperomyzus lactucae* وفحصها بالمجهر الإلكتروني، تظهر دقائق فيروس التقرح الأصفر في سيتوبلازم خلايا العضلات والمخ والجسم الدهني والقصبات الهوائية والبشرة والقناة الهضمية.

وقد أوضح سيلفيستر وريتشاردسون Sylvester and Ritchardson عام ١٩٧٠م نتائج مشابهة مع المنّ نوع *H. lactucae* المصاب بفيروس اصفرار العرق في التّفاف، كما أمكنهما نقل هذا الفيروس من دم الحشرة Haemelymph = Blood بعد حقنه في حشرات

سليمة، كما وجد أن الفيروس يتكاثر، أيضًا، في المزارع الخلوية لنفس الحشرة (بيترز وبلاك ١٩٧٠م Peters and Black 1970)، وأنه ينتقل من خلال بيض المن (سيلفيستر ١٩٦٩م) في عملية تسمى النقل عبر البيض Transovarial transmission.

(١٥,٣,٢) نطاطات الورق ونطاطات النبات Leaf hoppers and plant hoppers:

تعد نطاطات الورق والنبات ثانية أهم الحشرات الناقلة للفيروسات بعد المن. وهي تكثر على الأعشاب والشجيرات، وتتحرك عند إحداث اضطراب حولها إما بالقفز أو النط وإما بالطيران. ولها أجزاء فم ثاقب ماص مثل المن، وبإمكانها أن تثقب النباتات بسرعة أكبر محدثة ضررًا أشد لأنسجة النبات.

وتنتقل الفيروسات بنطاطات الورق بطريقة شبه مثابرة أو مثابرة. وتتغذى هذه الناقلات، أساسًا، على أنسجة اللحاء في النبات، إذ تتركز الفيروسات مثل فيروس السرطان الجرحي Wound tumour virus (WTV) الذي ينتقل بوساطة أجاليا كونستريكتا *Agallia constricta* بطريقة تكاثرية. إذ يصيب الفيروس القناة المعوية والليمف الدموي والغدد اللعابية بهذا التتابع على مدى فترة أسبوعين عند درجة حرارة ٢٧° م. وينتقل الفيروس في البيض.

أما فيروس تقزم الأرز Ricedwarf virus (RDV) فإنه ينتقل بكفاءة أكثر بوساطة الحوريات لنطاط الورق الأخضر نوع *Nephotellix cincticeps* عما تنقله الحشرات المكتملة النمو. ينقل الفيروس بعد فترة حضانة ١٢-٢٥ يومًا، ويكون ذلك طوال فترة حياة النطاط. ويمر الفيروس في البيض لكن الحوريات الناتجة تموت قبل تمام نضجها.

أما فيروس تنجرو الأرز Rice tungro وفيروس التقزم الشحوبي في الذرة الشامية Maize chlorotic dwarf virus (MCDV)، فهي شبه مثابرة في ناقلاتها.

(١٥,٣,٣) الذباب الأبيض White flies:

يشكل الذباب الأبيض أصعب الحشرات الناقلة للأمراض الفيروسية وأقواها. ويرجع ذلك، أساسًا، إلى صعوبة مكافحتها حتى بالمبيدات الحشرية الكيميائية أو

الحيوية أو غيرها. ولقد تعاظم خطرها الاقتصادي على مستوى العالم في السنوات الأخيرة سواء في الزراعة الحقلية المكشوفة أو في الصوبات والبيوت المحمية. وقد دمرت الذبابة البيضاء من نوع *Bemisia tabaci* محصول الطماطم في الأردن عام ١٩٥٩م، كما أدى نشرها لفيروس تبرقش الفاصوليا الأصفر Bean yellow mosaic virus في أمريكا الجنوبية، وفيروس تبرقش الكاسافا Cassava mosaic virus في نبات الكاسافا في أفريقيا الاستوائية وسببت فقدًا قدره ٨٠٪. وفي عام ١٩٨٨ و ١٩٨٩م، أدت إلى خسارة في الطماطم في مصر بلغت نحو ٧٠٪، وهي تتكاثر بأعداد كبيرة خاصة في شهري مارس ويوليو. وتكتسب الذبابة البيضاء بأجزاء فمها الثاقب الماص، الفيروس من لحاء النبات أثناء التغذية، إذ يدور في جسم الحشرة ولكنه لا يتكاثر. وأقل وقت يلزم لاكتساب الفيروس أثناء التغذية هو ٦ دقائق، على حين أن كفاءة النقل تزداد بزيادة وقت اكتساب التغذية. وتستغرق فترة الكمون ٤-٨ ساعة. ويستمر نقلها للفيروس حتى ٢٠ يومًا، ولكنها لا تنقل الفيروس خلال البيض. كما تحتفظ الحشرة بقدرتها على نقل الفيروس بعد الانسلاخ وتعد إناث الحشرات أكثر كفاءة في النقل من الذكور.

وقد سجل كرباتريك Kirkpatrick عام ١٩٣٠م أن الذبابة البيضاء كانت سببًا في انتشار مرض تجعد ورقة القطن Cotton leaf curl في السودان ونيجيريا، وسبب خسارة اقتصادية في المحاصيل عام ١٩٨١م بلغت ١٠٠مليون دولار في أوبئة حدثت من الذبابة البيضاء في صحاري أمريكا، وقد تضاعف عدد الفيروسات التي تنقلها الذبابة البيضاء من ٢٨ في سنة ١٩٦٣م إلى ٦٥ أو أكثر عام ١٩٨٣م (ميونيابا Muniyappa, 1983) .

ومن ضمن الفيروسات التي تنقلها الذبابة البيضاء:

١ - فيروس تجعد أوراق التبغ Tobacco leaf curl virus.

٢ - فيروس تبرقش أبوتيلون Abutilon mosaic virus.

٣ - فيروس التبرقش الذهبي في الفاصوليا Bean golden mosaic virus.

٤ - فيروس تخفّت اللون المعتدل في البطاطا Sweet potato mild mottle virus.

والفيروسات الثلاثة الأولى من الفيروسات التوأمية Geminiviruses ؛ أي أن كل دقيقة فيروسية من زوج الدقائق المحتوية على ح ن د (DNA) على حين أن الفيروس الرابع من الفيروسات الخيطية.

(١٥,٣,٤) التربس Thrips:

يوجد من التربس أربعة أنواع تقوم بنقل فيروس الذبول المبقع في الطماطم Tomato spotted wilt virus (TSWV) الذي يصيب أنواعًا عديدة من النباتات. كذلك، ينقل التربس فيروس التبقع الحلقي في التبغ Tobacco ringspot virus (TRV)، والذي ينتقل، فقط، بالحوريات وليس بالحشرة البالغة. أما فيروس الذبول المبقع في الطماطم فإنه يكتسب بوساطة يرقات Larvae تربس تاباسي *Thrips tabaci*، وليس بالحشرات المكتملة النمو، على حين أن الذي ينقل الفيروس هو الحشرة المكتملة النمو، وأقصر فترة اكتساب للفيروس هي ١٥دقيقة. وتوجد فترة كمون ٤ - ١٠أيام، وتصل أعلى كفاءة للحشرة المكتملة النمو في نقل الفيروس بعد ٢٢ - ٣٠ يوما، كما تحتفظ بالفيروس طوال فترة حياتها ولكنه لا ينتقل إلى الخلفة.

ومن المعروف، أيضًا، أن حشرات التربس أنواع *Seriothrips occipitalis*، و *Taeniothrips sjostedti* تنقل فيروس تبرقش اللوبيا Cowpea mosaic virus.

(١٥,٣,٥) البق الدقيقي Mealy bugs:

تعد حشرة البق الدقيقي مسئولة عن نقل فيروس الساق المتنفخة في الكاكاو Cocoa swaollen shoot virus. ويوجد نحو ١٨نوعًا من البق الدقيقي تعمل ناقلات فيروسية لخمسة فيروسات (هاريس Harris ١٩٨١م) أربعة منها تصيب الكاكاو. وتكتسب الفيروسات بالامتصاص عن طريق أجزاء الفم الخرطومية Stylet-like. وتتساوى كفاءة الحوريات والحشرات المكتملة النمو لأنواع بلانوكوكويدز *Planococcoides* sp. كناقلات لفيروس الساق المتنفخة في الكاكاو ؛ لأن الحشرة الأنثى لا تستطيع أن تنقل.

(١٥,٣,٦) الخنافس Beetles:

تتبع الخنافس رتبة غمدية الأجنحة Order: Coleoptera، وهي من أكبر المجموعات الحشرية. ويبين الجدول رقم (٤). أمثلة للفيروسات التي تنقلها الخنافس Beetles والسوس Weevils.

الجدول رقم (٤). يبين بعض الفيروسات المنقولة بالخنافس.

الفيروس	الناقل
تبرقش اللوبيا Cowpea mosaic	سيراتوما ترايفوركاتا *Ceratoma trifurcata*
تبرقش الكوسة Squash mosaic	أكاليمنا ترايفيتاتا *Acalymna trivittata*
	داي أبروتيكا أندسيمبنكتاتا *Diabrotica undecimpunctata*
تبرقش الفجل Radish mosaic	داي أبروتيكا أندسيمبنكتاتا *D. undecimpunctata*
	فيللوتريتا كروسيفيري *Phyllotreta cruciferae*
	إبيتريكس هيرتيبينيس *Epitrix hirtipennis*
التبرقش الأصفر في اللفت Turnip yellow mosaic	أنواع فيللوتريتا *Phyllotreta* spp.
	فيدون كوكليري *Phaedon cochleariae*
تبرقش الخيار البري Wild cucumber mosaic	أكاليمنا ترايفيتاتا *A. trivettata*
التبرقش الجنوبي في الفاصوليا Southern bean mosaic	سيراتوما ترايفوركاتا *C. trifurcata*
فيروس تغضن اللفت Turnip crinkle	أنواع فيللوتريتا *Phyllotreta* spp.
	أنواع سيللويدز *Psylloides* spp.

(١٥,٣,٧) الانتقال بالحلم Transmission by Mites:

الحلم Mites هي مجموعة من العنكبيات (أكارينا Acarina) ذات القرابة مع العناكب Spiders (أراكنايدز Arachinds). ويتغذى حلم النبات عن طريق امتصاص محتويات الخلايا النباتية. وتنتقل الفيروسات بوساطة عائلتين من الحلم هما تترانيكيدي Tetranychidae وإريوفييدي Eriophyidae.

وتعد الإريوفويدات Eriophoides أكثر أنواع الحلم نقلاً للفيروسات النباتية، وطولها ٠,٢ ولديها أربعة أرجل ومتطاولة. وأغلب أنواع الحلم متخصصة في النقل، إلا أن نوع *Aceria tulipae* تستعمر أنواعًا مختلفة من العائلات النباتية ولكنها تتغذى بأنواع محددة من هذه العائلات. وللإريوفويدات طوران للحوريات يعقبهما طور كاذب للخادرة Pseudopupal. ويستغرق التكشف من البيض إلى الحلم الكامل ٦ - ١٤ يومًا.

وتكتسب أطوار الحوريات، في نوع *Aceria tulipae*، فقط، فيروس التبرقش المخطط في القمح Wheat streak mosaic virus. ويستغرق اكتساب الفيروس Acquisiton of virus نحو ١٥ دقيقة، ويحافظ عليه أثناء الانسلاخ Moulting. وقد أوضحت الدراسة بالمجهر الإلكتروني بأن الفيروس يظل محددًا في المعى ولا يوجد دليل على تكاثر الفيروس في الناقل. كما لا يمر الفيروس إلى الخلفة. ويوضح الجدول رقم (٥). بعض أنواع الفيروسات التي ينقلها الحلم.

الجدول رقم (٥). يبين الفيروسات التي تنقل بوساطة الحلم والعناكب.

الفيروس	الناقل
١ - التبرقش المخطط في القمح Wheat streak mosaic	أسيريا تيوليبي *Aceria tulipae*
٢ - التبرقش المبقع في القمح Wheat spot mioaic	أسيريا تيوليبي *Aceria tulipae*
٣ - تبرقش حشيشة الشيلم Reygrass mosaic	أباكاراس هستركس *Apacarus hystrix*
٤ - تبرقش أجروبايرون Agropyron mosaic	أباكاراس هستركس *Apacarus hystrix*
٥ - تبرقش التين Fig mosaic	أسيريا فيكاس *Aceria ficus*
٦ - تبرقش الخوخ Peach mosaic	إريوفيس إنسيديوزاس *Eryophes insidiosus*
٧ - عقم بسلة الحمام Pigeon pea sterility	أسيريا كاجاناس *Aceria cajanus*
٨ - البرقوق الكامن Prunes latent	فازاتس فوكيني *Vasates fockeni*
٩ - التبقع الحلقي في التبغ Tobacco-ringspot	أنواع تترانيكاس *Tetranychus* spp.

(١٥,٤) الانتقال بوساطة حبوب اللقاح Transmission by pollen:

ينتقل عدد من الفيروسات التي تنتقل بالبذرة Seed -borne viruses إلى بويضات نباتات خالية من الفيروس بوساطة حبوب اللقاح من نباتات مصابة. ويبدو أن الفيروسات التي تنتقل بحبوب اللقاح Pollen-borne viruses تدخل البويضة بمصاحبة الأمشاج المذكرة خلال أنبوبة التلقيح التي تنمو مخترقة الكيس الجنيني.

وتنتقل نسبة كبيرة من فيروس التبرقش العادي في الفاصوليا Bean common mosaic virus إلى البذور عندما تلقح أزهار سليمة بحبوب لقاح من نباتات مريضة أكثر من تلك التي تنتج عن نبات أم مصابة، لكنها تلقح بحبوب لقاح من نبات سليم. ومعروف، أن الإصابة، في بعض الحالات، عندما تكون العدوى عن طريق حبوب لقاح مصابة، لا تقتصر على أنسجة النبات المشيجي لكن الفيروس يغزو النبات الملقح جهازيًا. وقد تأكد ذلك من التجارب التي أجريت بتلقيح فيروس التبقع الحلقي التقرحي للكريز Cherry necrotic rings virus في نباتات الكوسة. كما أثبتت الدراسات أن فيروس التبقع الحلقي التقرحي في البرقوق Prunus necrotic ringspot virus ينتشر في بساتين الكريز بالطريقة نفسها، وكذلك، أيضًا، انتقال فيروس التقزم الشجيري في توت العليق Raspberry bushy dwarf virus إلى توت العليق، أيضًا.

ويستدل من التجارب أن حبوب اللقاح المصابة بالفيروس تكون في أغلب الأحيان أقل كفاءة من حبوب اللقاح السليمة في عملية الإخصاب. وهذا يجعل دورها في انتقال الفيروسات محدودا.

(١٥,٥) الانتقال بالبذور Seed transmission:

نظرًا إلى أن نحو ٩٠٪ من المحاصيل الزراعية تزرع بوساطة البذرة، لذا، فإن انتقال الفيروسات بوساطة البذور يسبب خسارة فادحة على المستوى الاقتصادي القومي والعالمي. ولهذا السبب، يخضع استيراد البذور والتقاوى من دولة لأخرى لحجر

زراعي دقيق. ولقد كانت الدانمارك أول من أسس في كوبنهاجن مختبرًا لفحص البذور، وفي عام ١٩١٥م، تأسست في روما الرابطة العالمية لفحص البذور International Seed Testing Association (ISTA) التي أسهمت في تدريب كوادر علمية دقيقة من مختلفة أنحاء العالم. كما يوجد المعهد الدانماركي الحكومي لأمراض البذور الذي قام بتدريب كوادر علمية في الدول النامية ومازال يسهم في مكافحة أمراض البذور.

وقد ازدادت أعداد الفيروسات المنقولة بالبذرة في السنوات القليلة الماضية وتجاوزت ٨٠ فيروسًا أي ما يعني ١٥٪ من الفيروسات المعروفة بأنها تسبب أمراضًا للنبات. ومن الفيروسات التي تنتقل بالبذور بنسبة عالية فيروس التبرقش المخطط في الشعير Barley stripe mosaic virus، وفيروس التبرقش الجنوبي في الفاصوليا Southern bean mosaic virus، والأول يصيب كل البذور الناتجة عن النبات المصاب. وفي كثير من الأحيان، تكون النسبة المئوية لنقل الفيروس بالبذور قليلة. لكن خطر هذه النسبة القليلة يزداد عندما يكون للفيروس خاصية الانتقال بالمن أو الذبابة البيضاء أو غيرها من الحشرات مما يؤدي للانتشار الوبائي للفيروس في كامل الحقل والحقول المجاورة. فعلى سبيل المثال، وجد أنه عندما تكون نسبة البذور التي تحمل فيروس تبرقش الخس Lettuce mosaic virus ٠,٥٪، فقط، فإن ذلك قد يكون كافيًا لإتلاف محصول الخس بأكمله إذا وجدت حشرة المن الناقلة لهذا الفيروس. بناء عليه، فللحصول على زراعة جيدة، يجب ألا تزيد البذور الملوثة على ١/٣٠٠٠٠. وتعد الفيروسات المنقولة بالبذرة من أخطر الوسائل في نشر هذه الأمراض من دولة إلى أخرى، وربما تؤدي إلى كارثة قومية في أكثر من محصول خاصة إذا كان الفيروس ينتقل، أيضًا، بوسائل ميكانيكية وبالحشرات. ويبين الجدول رقم (٦) أهم الفيروسات التي تنتقل بالبذور.

الجدول رقم (٦). يوضح أمثلة من الفيروسات التي تنتقل بالبذور.

الفيروس	النبات العائل	النسبة المئوية للنقل
١ - فيروس تبرقش الفلفل	الفلفل *Capsicum annum*	١ - ٥
٢ - فيروس تبرقش البرسيم الحجازي	البرسيم الحجازي *Medicago sativa*	٦
٣ - فيروس تصمغ المشمش Apricot gummosis V.	البرقوق *Pruns avium*	١٥
٤ - فيروس تبرقش أرابيس Arabis M.V	البنجر *Beta vulgaris*	١٣
	كينوبوديام ألبام *Chenopodium album*	٨٠
	فول الصويا *Glycine max*	٦,٣
	الخس *Lactuca sativa*	٦٠ - ١٠٠
	الطماطم *Lycopersicon esculentum*	١,٨
	بيتونيا *Petunia hybrida*	٢٠
٥ - فيروس تبرقش الشعير	الشعير *Hordeum vulgare*	٢ - ٤٥
٦ - فيروس التبرقش المخطط في الشعير	الشوفان *Avena sativa*	صفر - ٩,٥
	الشعير *Hordeum vulgare*	٨٥
	القمح *Triticum aestivum*	٦,٧ - ٨١
٧ - فيروس التبرقش العادي في الفاصوليا B.C.M.V	الفاصوليا *Phaseolus vulgaris*	٥٠
٨ - فيروس التبرقش الجنوبي في الفاصوليا BSMV	اللوبيا *Vigna sinensis*	٣ - ٤
٩ - فيروس التبرقش الأصفر في الفاصوليا BYMV	نوع من الترمس *Lupinus luteus*	٦,٢
١٠ - فيروس التبرقش الغربي في الفاصوليا	الفاصوليا *Phaseolus vulgaris*	٢ - ٣
١١ - فيروس التبرقش الحقيقي في الفول Broad bean true mosaic virus	الفول *Vicia faba*	١٥
١٢ - فيروس التزركش الأخضر في الخيار Cucumber green mottle mosaic virus	الخيار *Cucumis sativus*	٤٤
١٣ - فيروس تبرقش البطيخ Muskmelon mosaic virus	البطيخ *Cucumis melo*	١٢ - ٩٣
١٤ - فيروس التفاف الأوراق في البسلة Pea leaf roll virus	البسلة *Pisum sativun*	٢٠ - ٨٠

تابع الجدول رقم (٦).

الفيروس	النبات العائل	النسبة المئوية للنقل
١٥- فيروس الشحوب اليخضوري للحواف في الفول السوداني Peanut marginal chlorosis virus	الفول السوداني *Arachis hypogea*	٣٠ - ١٠٠
١٧- فيروس التبقع الحلقي في التبغ Tobacco ringspot virus	البطيخ *Cucumis melo*	٣ - ٧
	فول الصويا *Glycine max*	٥٤ - ٧٨
	الخس *lactuca sativa*	٣
١٨- فيروس الحلقة السوداء في الطماطم Tomato black ring virus	البنجر *Beta vulgaris*	٥٦
	كيس الراعي *Capsella-bursa-pastoris*	٩٠
	فول الصويا *Glycine max*	٨٣
	الطماطم *Lycopersicon esculentum*	١٩
	أبو ركبة *Polygonum persicaria*	٢١ - ١٠٠
١٩- فيروس التبقع الحلقي في الطماطم Tomato ringspot virus	فول الصويا *Glycine max*	٧٦
٢٠- فيروس تبرقش الكوسة Squash mosaic virus	الكوسة *Cucurbita pepo*	٣٥

(١٥,٦) الفيروسات المنقولة بالفطريات Fungi – borne viruses:

لقد وجد أن الفيروسات التي تبقى وتثابر في التربة لفترة طويلة يمكن أن تنتقل بوساطة الفطريات. وكان أول من اكتشف أن الفطريات تعمل ناقلات للفيروسات هو العالم الياباني هيداكا Hidaka عام ١٩٦٠م عندما اكتشف وجود علاقة بين فيروس تقزم التبغ Tobacco stunt virus ، وبين فطر أولبيديام براسيكي *Olpidium brassicae*. كما وجد تيكل Teakle عام ١٩٦٠م، أيضًا، علاقة بين الفطر نفسه وفيروس نخر التبغ Tobacco necrosis virus. ومنذ ذلك الوقت، سُجل العديد من الفيروسات التي تنقلها الفطريات. ومن أهم رتب الفطريات التي تنقل الفيروسات رتبتان، هما: البلازموديوفيرات Plasmodiophorales والكتريدياﻻت Chytridiales.

ويوجد، على الأقل، ثلاثة فيروسات متساوية الأضلاع Isometric معروف بأنها تنتقل بناقلات كيتريدية Chytrid vectors مثل *Olipidium brassicae*، وهو فيروس نخر التبغ TNV، وفيروس مذنب نخر التبغ TNV satelite. أما *O. radicale*، فإنه ينقل فيروس نخر الخيار Cucumber necrosis virus.

وتنقل أنواع ناقلات بلازموديوفوريد Plasmodiophorid vectors عددًا من الفيروسات الخيطية تشمل فيروس تبرقش القمح Wheat mosaic virus الذي ينقل بوساطة فطر بوليميكسا جرامينيز *Polymexa graminis*، وفيروس نخر العرق الأصفر في البنجر Beet necrotic yellow vein وينقله بوليميكسا بيتي *P.betae*، وفيروس قمة مكنسة البطاطس Potato mop top virus الذي ينقله الفطر نوع *Spongospora subterranea*.

وتصيب الفطريات الدنيا البسيطة عوائلها من النبات بوساطة السابحات الجرثومية Zoospores. وتحمل السابحات الجرثومية الفطرية الفيروسات على سطحها عن طريق اختراقها بشرة الجذر.

(١٥,٧) الفيروسات المنقولة بالديدان الأسطوانية (نيماتودا)

Viruses transmitted by Nematodes

أول من اكتشف أن الديدان الأسطوانية تنقل الفيروسات في التربة هو هيويت وزملاؤه (Hewitt et. al., 1958) عام ١٩٥٨م عندما بينوا أن النيماتودا نوع *Xiphinema index* تنقل فيروس الورقة المروحية في العنب Grapevine fanleaf virus.

وناقلات النيماتودا هي طفيليات خارجية Ectoparasites توجد في التربة وتتغذى على الجذور خاصة قممها. وتتبع الناقلات المعروفة أربعة أجناس يمكن تقسيمها إلى مجموعتين على أساس علاقاتها بالفيروسات التي تنقلها. فأفراد جنسي: *Longidorus* و *Xiphinema* (عائلة لونجيدوريدي Longidoridae) تنقل فيروسات نيبو عديدة الأضلع Polyhedral nepoviruses مثل: فيروس الورقة المروحية في العنب،

وفيروس تبرقش أرابيز Arabis mosaic virus، وفيروس التبقع الحلقي في الطماطم Tomato ringspot virus، وهي تسبب أمراضًا مهمة في الثمار الطرية والخشبية. وهذه الناقلات أكبر في الحجم (طول الدودة المكتملة النمو ٢ -١٢مم من جنسي *Trichodoras* spp. و*Paratrichodorus* spp. (عائلة ترايكودوريدي Trichodoridae)، إذ يبلغ طول الناقلات فيهما ٢ مم. وهي تنقل فيروسات توبرا المستقيمة Straight tobra viruses مثل: فيروس خشخشة التبغ Tobacco rattle virus وفيروس التلون البني المبكر في البسلة Pea early browning virus.

ويشبه النقل بالديدان الاسطوانية، إلى حد ما، النقل شبه المثابر بالحشرات الناقلة. ولا تثابر الفيروسات بعد الانسلاخ. وتكتسب كل من فيروسات نيبو وفيروسات توبرا خلال ١٥ دقيقة إلى ساعة وتحقن في المدة الزمنية نفسها. كما أن التغذية لفترات أطول تزيد من قدرة اكتساب الفيروس. ولا يتكاثر الفيروس في الديدان الاسطوانية، وتتمكن اليرقات والديدان المكتملة النمو من نقل الفيروسات.

(١٥,٨) الفيروسات المنقولة بوساطة الحامول Viruses transmitted by Dodders:

الحامول Dodder نبات زهري راق متطفل على نباتات زهرية أخرى بوساطة الممصات الساقية Stem haustoria التي يرسلها في النبات العائل. وهو نبات لا يملك أوراقًا ولا جذورًا ولا كلورفيلاً لكنه يحمل على سيقانه الطويلة الخيطية الرفيعة الصفراء أزهارًا وثمارًا. وينتشر نبات الحامول بصورة سريعة ورهيبة على كل النباتات المحيطة به. فإذا كان أحد هذه النباتات مصابًا بالفيروس فإن النباتات الأخرى ينتقل إليها الفيروس بوساطة ممصات الحامول.

ولقد كان بينيت Bennett هو أول من استخدم الحامول في نقل الفيروسات تجريبيًا (عام ١٩٤٠م Bennet, 1976). ويستخدم الحامول - الآن - في نقل الفيروسات التي لا يمكن نقلها ميكانيكيًا. ويوجد من أنواع جنس الحامول عشرة أنواع تتطفل على أكثر من ٥٠٠ نبات راق يتبع ٧٨ عائلة نباتية. ومن أشهر أنواع الحامول *Cuscuta*

campestris و *C. californica* و *C.subinclusa*. وقد وجد أن فيروس خشخشة التبغ TRV ينقل بالنوعين الأولين وليس بالنوع الأخير.

ومن أمثلة الفيروسات التي تنقل بالحامول:

١ - التقزم الأصفر في الشعير
٢ - تورد الخوخ Peach rosette
٣ - تجعد القمة في البنجر
٤ - اختزال البذور في الطماطم Tomato aspermy
٥ - حفر التبغ Tobacco etch
٦ - الذبول المبقع في الطماطم
٧ - تبرقش البسلة
٨ - الذبول الأصفر في البنجر
٩ - تبرقش التبغ
١٠ - إكسوكورتس الموالح Citrus exocartis
١١ - تبرقش الخيار (ويتكاثر في الحامول)
١٢ - قوباء الموالح Citrus psorosis
١٣ - التقزم الشجيري في الطماطم
١٤ - ترستيزا الموالح Citrus tristeza

وغيرها

الفصل السادس عشر

بعض أمثلة من فيروسات النبات
Some Examples of Plant viruses

لا شك أنه من المعلوم لدى الغالبية بأن أنواعًا معينة من الفيروسات النباتية تعد الأوسع انتشارًا، والأكثر خطورة، وأن بعضها حظي بوضع تاريخي واقتصادي مهم مثل الفيروس الذي يسبب تبرقش التبغ Tobacco mosaic virus (TMV) وغيره. إلا أننا سوف نجد - بتوسيع النظرة الفاحصة وشمول المعرفة - أن عددًا كبيرًا من الفيروسات النباتية يحظى الآن باهتمام عظيم، إما لتوطنه الوبائي، أو لانتشاره الوبائي، أو لطريقة عدواه، أو للآليات التي يتكاثر بها، أو للوسائل التي ينتقل بها، أو لاكتسابه عوائل جديدة، أو لصعوبة مقاومته، أو لتسلله إلى بقاع كانت خالية منه فأحدث فيها فسادًا ودمارًا، أو لاستخدامه في بحوث زراعة الجين والهندسة الوراثية أو لاستخدامه في مقاومة الأمراض الفيروسية. وأخيرًا وليس بآخر، لاستخدامه في الحرب الجرثومية لتدمير اقتصاديات الدول المعادية أو المنافسة؟!.

وفيما يلي نبذة مختصرة لبعض أمثلة فيروسات النبات وأمراضها. وعلى القارىء الرجوع إلى الكتب التخصصية في فيروسات النبات أو أمراض النبات الفيروسية أو أمراض النبات ووقاية النبات.

(١٦,١) فيروس تبرقش الطماطم (To MV):

ويسمى، أيضًا، *Lycopersicum* virus1، سجله في أمريكا لأول مرة كلينتون Clinton عام ١٩٠٩م.

(١٦,١,١) التوزيع الجغرافي:

في حقول الطماطم في كل أنحاء العالم.

(١٦,١,٢) خصائص الفيروس Virus properties:

الدقيقة الفيروسية عصوية صلبة أبعادها ٣٠٠ × ١٨ نانومترًا. الحامض النووي ح ن ر RNA مفرد الخيط يشكل ٥٪ من كتلة الدقيقة الفيروسية والباقي بروتين. والدقائق الفيروسية ذات تماثل حلزوني.

(١٦,١,٣) مدى العوائل Host range:

يتطفل على عدد كبير من النباتات خاصة التابعة للعائلة الباذنجانية.

(١٦,١,٤) طرق نقل الفيروس Methods of virus transmission:

يسهل نقله ميكانيكيًا لكثير من النباتات العشبية، ولا ينتقل بالحشرات، لكنه ينتقل بوساطة البذور على سطحها أو داخل الأغلفة، ولكن ليس في الجنين. وقد تصل النسبة إلى ٩٤٪. وقد وجد أن السلالات الصفراء والخضراء تنتقل في الشتاء وليس في الصيف بوساطة الحامول.

(١٦,١,٥) خواص الفيروس في العصير النباتي:

١ - درجة الحرارة المثبطة هي ٨٥ - ٩٠° م لمدة ١٠ دقائق.

٢ - درجة التخفيف النهائية في عصير أوراق الطماطم $١٠^{-٥}$ - $١٠^{-٦}$، وفي عصير التبغ نوع *Nicotiana clevalendii* ٢ × $١٠^{-٣}$.

٣ - القدرة على التعمير Longivity لعدة أشهر عند درجة حرارة الغرفة، ولبضع سنوات عند درجة صفر -٢° م ولا تتغير عند التخزين عند درجة -٢٠° م.

(١٦,١,٦) أعراض المرض:

تتأثر أعراض المرض بعوامل منها: درجة الحرارة، وشدة الضوء، وعمر النبات أثناء العدوى، وسلالة الفيروس. وعلى هذا الأساس، يمكن تقسيم الأعراض إلى:

١ - تبرقش أخضر مع تشوه الأوراق الغضة، وتعد هذه أعراضًا شائعة في نباتات الطماطم بالبيوت المحمية في الصيف. أما في الشتاء، فتكون متقزمة بشدة وتتشوه الأوراق فتشبه الورقة السرخسية Fern leaf، لكن التبرقش يكون خفيفًا، وتقل حيوية النباتات، وتنخفض الإنتاجية مابين ٣ - ٢٣٪.

٢ - تبرقش أصفر واضح Aucuba mosaic، ويظهر، أيضًا، على الثمار.

٣ - النخر Necrosis، ويظهر على السيقان والحوامل النصلية والوريقات والثمار. ويتسبب ذلك فيما يسمى تخطيط الفيروس الواحد Single virus streak أو تخطيط البيوت المحمية Glasshouse streak وهو يظهر على شكل خطوط ميتة من الأنسجة على السيقان والحوامل النصلية، كما قد يؤدي لموت النبات.

وفي حالة أخرى، يظهر التخطيط من إصابة فيروسية مزدوجة Double-virus streak أحد الفيروسين هو فيروس تبرقش الطماطم، والثاني فيروس البطاطس إكس. وهي حالة أشد قسوة من الأولى، إذ تتشوه الثمار بشدة. وتظهر عليها بثرات بارزة أولاً ثم تصبح غائرة فيما بعد، كما يصاحب ذلك نخر داخلي في الثمار يسمى، أحيانًا، النخر البرونزي Bronzing.

(١٦,١,٧) المكافحة Control:

(أ) تجنب العدوى كما يلي:

١ - استخدام بذور خالية من الفيروسات أو زراعة البذور مباشرة في مكانها الدائم بالحقل. وللتأكد من خلو البذور من الفيروس تطحن بعض البذور مع محلول منظم الفوسفات وتلقح بها نباتات التبغ نوع *Nicotiana glutinosa*.

٢ - عزل الحقل المصاب عن الحقول الأخرى المزروعة بالخضراوات، والتأكد من أن الحقل لم يزرع في السنة السابقة بمحاصيل التبغ أو الطماطم أو النباتات المعروف إصابتها بالفيروس.

٣ - أما في البيوت المحمية، فيجب:

(أ) تعقيم التربة.

(ب) ارتداء العمال ملابس جديدة ومعقمة يوميًا، وكذلك تعقيم الأحذية.

(جـ) تقليل زيارات الأفراد الآخرين للصوبات، وإن كان لا بد من ذلك، يلزمهم ارتداء ملابس معقمة وغسل أيديهم.

(د) عدم التدخين داخل الصوبات، كما يحظر على العاملين وضع أدوات الحقل كالمقص والسكين داخل جيوبهم التي تكون ملوثة من تبغ السجائر.

(ب) التخلص من الفيروس بالتعقيم:

تعقم البذور قبل زراعتها كما يلي:

١ - معاملة لب ثمار الطماطم المنتخبة للتقاوى وعصيرها بحامض هيدروكلوريك HCl مركز لمدة نصف ساعة، ثم تغسل البذور وتجفف، وبذا يقضى على الفيروسات الموجودة على قصرة البذرة.

٢ - يمكن تعقيم البذور بمحلول ١٠٪ من ثلاثي فوسفات الصوديوم أو هيدروكسيد الصوديوم أو بالأشعة فوق البنفسجية.

٣ - معاملة البذور الجافة بالحرارة لمدة ٣ أيام عند ٧٠° م أو ليوم واحد عند ٨٠° م لفترة وجيزة ١٠ دقائق، على سبيل المثال.

وتعقم التربة في البيوت الزجاجية ببخار الماء الساخن إلا أنه ليس فعالاً لفيروس الطماطم، وتعقم أيدي العمال وأدواتهم.

(جـ) تقليل تأثير الإصابة الفيروسية:

١ - توفير التغذية والظروف الملائمة لنمو النباتات.

٢ - تلقيح الطماطم بسلالة ضعيفة من فيروس تبرقش الطماطم.

٣ - استخدام أصناف طماطم مقاومة.

(١٦,٢) فيروس البطاطس إكس Potato virus X:

ومن تسمياته القديمة: التبرقش المعتدل في البطاطس Potato mild mosaic virus، وفيروس سولانام -١ Solanum virus-1. وقد سجله سميث أول مرة عام ١٩٣١م بإنجلترا.

(١٦,٢,١) التوزيع الجغرافي: ينتشر في كل أنحاء العالم، حيثما وجدت زراعات البطاطس.

(١٦,٢,٢) خصائص الفيروس: دقيقة الفيروس عصوية خيطية مرنة أبعادها ٥١٥ × ١٣ نانومترا، ووزنه الجزيء ٣٥ × ١٠^{٦} دالتون، والحامض النووي هو ح ن ر مفرد الخيط.

(١٦,٢,٣) مدى العوائل: يصيب معظم نباتات العائلة الباذنجانية مثل البطاطس الحلوة والتبغ. ويصيب كينوبوديم أمارانتيكولور *Chenopodium amaranticolor* (Chenopodiaceae)، وجومفرينا جلوبوزا *Gomphrena globosa* (Amaranthaceae).

(١٦,٢,٤) طرق انتقال الفيروس: ينتقل الفيروس ميكانيكيًا بسهولة في التجارب، وبها ينتقل، أيضًا، في الحقل وكذلك بوساطة الحشرات مثل الجراد. وهو، أيضًا، نقل ميكانيكي.

(١٦,٢,٥) خواص الفيروس في عصير النبات:

١ - درجة الحرارة المثبطة للفيروس هي ٦٨ - ٧٦° م لمدة ١٠ دقائق.

٢ - درجة التخفيف النهائية بين ١٠$^{-٥}$ - ١٠$^{-٦}$.

٣ - القدرة على التعمير: يبقى معديًا عند درجة ٢° م لعدة أسابيع، وعند إضافة الجلسرين للعصير تمتد فترة التعمير لسنة. وقد يبقى معديًا وهو في أنسجة النبات الجافة لمدة ٢٥٠ يومًا.

(١٦,٢,٦) أعراض المرض:

يُعدّ فيروس البطاطس إكس من أكثر الفيروسات انتشارًا في حقول البطاطس في كل أنحاء العالم، ويطلق عليه في أمريكا فيروس البطاطس السليمة ؛ لأن بعض أصناف البطاطس المصابة قد لا تظهر عليها أعراض الإصابة أو تكون في شكل تبرقش بسيط في أنسجة الورقة ما بين العروق مع تقزم قليل. أما أصناف البطاطس التي تظهر عليها أعراض فتكون على شكل تبرقش في الأنسجة ما بين عروق الورقة.

(١٦,٢,٧) الحقن التجريبي: يتسبب الفيروس في جروح موضعية Local lesions عند حقن نبات التبغ سلالة سمسون *Nicotiana tabacum cv Samsun*، وكذلك يتسبب في جروح موضعية على أوراق نبات جومفرينا جلوبوزا. لكن حقن نبات داتورة سترامونيام *Datura stramonium* يعطي تبرقش الورق وشفافيته.

(١٦,٢,٨) المكافحة: استخدام تقاوى خالية من الفيروس وتجنب انتشار الفيروس بالنقل الميكانيكي واستخدام أصناف مقاومة للفيروس.

(١٦,٣) فيروس تبرقش الخيار Cucumber mosaic virus

من التسميات السابقة فيروس الخيار Cucumber virus ؛ وفيروس الورقة السرخسية في الطماطم Tomato leaf fern virus ، وفيروس لفحة السبانخ Spinach blight virus. وقد إكتشفه جاجار Jaggar ودوليتل Dolittle ، كل على حدة، عام ١٩١٦م في أمريكا. والفيروس منتشر في كل أنحاء العالم، ويؤثر على محاصيل إقتصادية عديدة، وينتشر، أيضًا، في الشرق الأوسط، وتكتسب وبائياته أهمية كبيرة.

(١٦,٣,١) خصائص الفيروس:

الفيروس إيكوزاهيدرالي متعدد الدقائق (من ٣ دقائق)، قطر الدقيقة ٣٠ نانومترًا، ووزنه الجزيئي، ٥,٨ – ٦,٧ × 10^6 دالتون والحامض النووي ح ن ر RNA مفرد الخيط تبلغ نسبته ١٨٪ من كتلة الفيريون.

(١٦,٣,٢) مدى العوائل:

للفيروس مدى عوائل واسع ويصيب نباتات تتبع ٤٠ عائلة من ذوات الفلقتين والفلقة الواحدة، وتضم نباتات وخضراوات وفاكهة وزهور زينة وشجيرات وأشجار، وكذلك نباتات التبغ والطماطم والكوسة والباذنجان والخيار والبطيخ والفلفل والشمام والبصل والجلاديولاس.

(١٦,٣,٣) طرق نقل الفيروس:

يتم النقل ميكانيكيًا وبسهولة، وبالحشرات، خاصة المن، ومن أشهرها مَنّ الخوخ *Aphis persicae*، ومَنّ القطن *A. gossypii*، وتكتسب الحشرات الفيروس في دقائق وتنقله مباشرة لمدة تصل إلى ٤ ساعات بعد التغذية، وتنقل الفيروس بطريقة غير مثابرة. كما ينتقل الفيروس، أيضًا، بوساطة البذور في نحو ١٩ نوعًا نباتيًا، إذ يحدث بنسبة قليلة (١٪ فأقل) في القرعيات والطماطم وبنسبة ٤ - ٢٨٪ في نوع من اللوبيا مثل *Vigna unqulculata*، و ٢٠٪ في الفاصوليا. وعلى حين ينتقل في بذور الخيار البري *Micrampelic lobata* إلا أنه ينتقل في بذور الخيار العادي. ومن طرق انتقاله الأخرى: عن طريق الحامول.

(١٦,٣,٤) خواص الفيروس في عصير النبات:

١ - درجة الحرارة المثبطة للإصابة ٧٠° م لمدة ١٠ دقائق.
٢ - درجة التخفيف النهائية 10^{-4}.
٣ - القدرة على التعمير: ٣ - ٦ أيام عند درجة حرارة ٢٠° م، ويزيد حامض ثيوجلايكوليك Thioglycolic acid ٠,١٪ من استقرار الفيروس في العصير.

وتوجد سلالات عديدة للفيروس من أهمها السلالتان الصفراء وواي Yellow and Y strains of price. فالأولى تسبب تبرقشًا براقًا على التبغ، وتسبب جروحا موضعية على نباتات زينيا *Zinnia* spp. المحقونة، أما سلالة Y فتسبب أعراضًا أخف

على التبغ وتسبب إصابة جهازية في نبات اللوبيا. وتسمى السلالة الثالثة سلالة السبانخ Spinach strain of Bhargava ، وهي تسبب جروحا موضعية ميتة على نباتات التبغ أو تبرقش أخضر أو بقع دائرية أو تشوه بعض العروق على نباتات أخرى وموتها.

(١٦,٣,٥) أعراض المرض على الخيار:

تبدأ أعراض المرض بظهور مساحات صفراء مخضرة على الأوراق الخصوية حديثة التكشف، ثم تتحول إلى تبرقش أصفر على جميع الأوراق المصابة. ويصاحب الإصابة تشوهًا وتقزمًا في النباتات. وإذا كانت الإصابة مبكرة كانت الأزهار والثمار قليلة كما يقل، أيضًا، امتداد النبات، ويصبح مظهره شجيريًا متقزمًا، وتتميز الأعراض على الثمار بتبرقش أخضر مصفر يظهر أولاً على نهاية الثمرة جهة النبات، ثم ينتشر وتظهر بقع خضراء داكنة بارزة تشبه الثآليل.

(١٦,٣,٦) المكافحة:

١ - استخدام بذور سليمة خالية من الإصابة.
٢ - إزالة الحشائش.
٣ - زراعة أصناف مقاومة من السبانخ والخيار واللوبيا.
٤ - إبادة النباتات المصابة مبكرًا في الحقل.
٥ - مكافحة حشرات المن بالمبيدات الكيميائية.

(١٦,٤) فيروس التبرقش المخطط في الشعير

Barley stripe mosaic virus

ويسمى، أيضًا، فيروس الشعير المخطط الكاذب Barely false stripe virus. وقد اكتشفه ماك كيني McKinny عام ١٩٥١م عقب انتشاره في ولاية ويسكانسون الأمريكية عام ١٩٥٠م.

(١٦,٤,١) التوزيع الجغرافي:

ينتشر في معظم أنحاء العالم.

(١٦,٤,٢) خصائص الفيروس:

الفيريون على شكل دقيقة واحدة عصوية صلبة طولها ١٢٥- ١٤٨ ، وعرضها ٢٠ نانومترًا. وزنه الجزيئي ٢٦ × $١٠^٦$ دالتون، والمادة الوراثية هي ح ن ر RNA مفرد الخيط، ونسبتها ٤٪ من كتلة الفيروس.

(١٦,٤,٣) مدى العوائل:

يصيب العائلة النجيلية وبخاصة الشعير والقمح والذرة الشامية وبعض الحشائش، كما يصيب نباتات العائلة الرمرامية Chenopodiaceae والباذنجانية Solanaceae.

(١٦,٤,٤) طرق نقل الفيروس:

ينتقل ميكانيكيًا. كما ينتقل بالبذور بنسبة قد تصل ٩٠ - ١٠٠٪، وينتقل، أيضًا، بوساطة حبوب اللقاح التي تُعدي نباتات سليمة في الحقل نفسه أو في حقول أخرى. وقد بلغت الإصابة في صنف Compana ٥٥٪ في ولاية مونتانا بكندا، وكانت نسبة الإصابة في البذور نحو ٩٠٪، وبعد ذلك قلت نسبة الإصابة إلى ١٪ عام ١٩٧٠م نتيجة لفحص البذور.

(١٦,٤,٥) خوا ص الفيروس في عصير النبات:

١ - درجة الحرارة المثبطة للفيروس في عصير نبات الشعير ٧٠° م لمدة ١٠ دقائق.

٢ - درجة التخفيف النهائية ٠,٥ — ٢ × $١٠^{-٣}$.

٣ - القدرة على التعمير: وجد أن الفيروس يحتفظ بقدرته على إحداث الإصابة في الأوراق المصابة والمجففة حتى بعد ١٢ عامًا.

(١٦,٤,٦) أعراض المرض:

تكون الأعراض جهازية في معظم النباتات، فتظهر على البادرات الحديثة الناتجة عن بذور مصابة. كما تظهر الأعراض على النباتات المكتملة النمو على هيئة تبرقش مشوب باصفرار. وتظهر، أيضًا، خطوط طويلة بنية على أنصال الأوراق،

ويبقى جزء الورقة الخارجي حول الخطوط البنية أخضر وسليمًا. بينما يظهر تبرقش على الجزء الداخلي. وتنتج الخطوط البنية من موت الأنسجة. كما يحدث تقزم وعقم في بعض الأزهار، وتأخر تكشف الأوراق، وتأخير في تكوين الحبوب وضمورها وقلتها. ويؤثر على الإصابة العوامل الجوية إذ تزداد عند درجة حرارة ٢٢ - ٣٠° م وتقل تحت ٢٠° م كما تتأثر، أيضًا، بسلالات الفيروس. ويمكن عزل الفيروس والتعرف عليه عند حقنه على نباتات كينوبوديام أمارانيتكولور *Chenopodium amaranticolor*، إذ يعطي إصابة موضعية.

(١٦,٤,٧) المكافحة: تتم عن طريق فحص سلامة البذور الخالية من الفيروس، واستخدام الحليب الفرز أو الشرش لرش النباتات يقلل من انتشار المرض في الحقل.

(١٦,٥) فيروس تبرقش التبغ Tobacco mosaic virus

أول من اكتشفه ودرسه ونشر عنه بحثًا كان العالم الهولندي ماير Mayer عام ١٨٨٦م، ثم جاء بعده إيفانوفسكي الروسي عام ١٨٩٢م وبيجيرينك Beijerinck الألماني عام ١٨٩٨م. والفيروس يسبب مرضًا في نباتات التبغ وغيرها من المحاصيل.

(١٦,٥,١) التوزيع الجغرافي:

يوجد في كل أنحاء العالم، ويكثر في زراعات التبغ وكثير من نباتات العائلة الباذنجانية كالطماطم والفلفل وغيرها.

(١٦,٥,٢) خصائص الفيروس:

الفيريون من دقيقة واحدة عصوية صلبة طولها نحو ٣٠٠ نانومتر، وعرضها ١٥ نانومترًا. الوزن الجزيئي لها ٤٠ × ١٠^٦ دالتون. المادة الوراثية ح ن ر RNA مفرد الخيط.

(١٦,٥,٣) مدى العوائل:

يصيب الفيروس نحو ٣٥٠ نوعًا من النباتات، تنتمي إلى ٣٠ عائلة من النباتات البذرية.

(١٦,٥,٤) طرق انتقال الفيروس:

١ - الانتقال الميكانيكي والتلامس: ويوجد في تبغ السجائر والسيجار وتبغ النارجيلة والنشوق، وتكون مصدرًا للعدوى، وكذلك تدخين السيجار. كما تعمل الأدوات والآلات الزراعية الملوثة على نقل الفيروس، وكذلك مرور الحيوانات داخل المزروعات والعمال، وكذلك الحشرات القارضة كالجراد.

٢ - لا ينتقل بوساطة الحشرات ذات الفم الثاقب الماص.

٣ - بوساطة البذور: ينتقل الفيروس في بذور بعض النباتات دون نباتات أخرى، فلا ينتقل في بذور التبغ لكنه ينتقل في بذور الفلفل (٢٢٪)، والطماطم (٤٪)، وبعض أصناف التفاح (٢ - ٣٨٪)، والعنب (٢٠٪).

٤ - ينتقل بوساطة بعض أنواع الحامول.

(١٦,٥,٥) خواص الفيروس في عصير النبات:

١ - درجة الحرارة المثبطة للفيروس هي ٩٠ - ٩٣° م لمدة ١٠ دقائق.

٢ - درجة التخفيف النهائية هي ١٠ $^{-٦}$.

٣ - قدرة التعمير في العصير أكثر من ٥٠ عامًا.

(١٦,٥,٦) أعراض المرض:

يبدأ المرض في نباتات التبغ بروقان (شفافية) العروق Vein clearing على الأوراق حديثة التكشف في القمة النامية. ثم ينتشر التبرقش المصحوب ببعض التشوه. كما قد تلتف حواف الأوراق المصابة لأعلى وتظهر على السطح العلوي للأوراق بروزات خضراء متميزة تشبه البقاليل Blisters. يلي ذلك تكوين تبرقش متميز بظهور مساحات خضراء داكنة، وأخرى فاتحة في نصل الأوراق، وتقزم الأوراق وتشوه شكلها. وفي بعض الأحيان، يتحور نصل الورقة ويختزل إلى مايشبه الخيط الرفيع مثل رباط الحذاء Shoe-string.

وتختلف الأعراض على حسب سلالات الفيروس ووجود سلالة أو أكثر ونوع النباتات والظروف المتاحة: ويوجد من فيروس تبرقش التبغ أكثر من ٣٠ سلالة.

(١٦,٥,٧) المكافحة:

١ - زراعة أصناف مقاومة.

٢ - عدم لمس النباتات.

٣ - عدم زراعة أرض كان فيها نباتات مصابة بنفس المحاصيل.

٤ - مكافحة الحشرات القارضة والحشائش.

٥ - الامتناع عن التدخين في الحقل.

(١٦,٦) فيروس تبرقش الفاصوليا العادي Bean common mosaic virus

سجله لأول مرة الأمريكيان ستيوارت وريدك Stewart & Reddic عام ١٩١٧م.

(١٦,٦,١) التوزيع الجغرافي: ينتشر في كل مناطق العالم حيثما وجدت زراعات الفاصوليا.

(١٦,٦,٢) مدى العوائل:

يصيب نحو ٤٠ نباتًا من البقوليات خاصة الفاصوليا والفول، ولا يصيب الطماطم والتبغ والخيار واللوبيا.

(١٦,٦,٣) خواص الفيروس:

دقيقة الفيروس عصوية مرنة طولها ٧٥٠ نانومترًا، وقطرها ١٥نانومترًا، ويتبع فيروسات بوتي Poty virus أي البطاطس واي. والمورث من ح ن ر مفرد الخيط.

(١٦,٦,٤) طرق الانتقال:

١ - ميكانيكيًا بسهولة.

٢ - بوساطة الحشرات مثل مَنّ الخوخ *Myzus persicae*، ومَنّ الفول *M. fabae*. وتكتسب الحشرة الفيروس من النبات في أقل من دقيقة، وكذلك فترة تلقيح النبات السليم، ولا توجد فترة كامنة، لذا، فالفيروس غير مثابر Non-persistent.

٣ - بوساطة البذور: وهو أهم مصدر لانتشار الفيروس وإحداث إصابات أولية في الحقل. قد تصل نسبة البذور المصابة إلى ٨٣٪، والنباتات التي تصاب بعد الإزهار لا تصاب بذورها بالفيروس. يوجد الفيروس في الجنين وفلقات البذرة. وقد وجد أن الفيروس ظل فعالاً في بذور ظلت مخزنة لمدة ٢٠ عامًا.

٤ - بوساطة حبوب اللقاح.

(١٦,٦,٥) خواص الفيروس في عصير النبات:

١ - درجة الحرارة المثبطة ٥٠ - ٦٥° م لمدة ١٠ دقائق.

٢ - درجة التخفيف النهائية ١٠$^{-٣}$ - ١٠$^{-٤}$.

٣ - القدرة على التعمير ١ - ٤ أيام عند درجة حرارة الغرفة.

(١٦,٦,٦) أعراض المرض:

تختلف الأعراض تبعًا لنوع النبات وسلالة الفيروس، والظروف البيئية، وتظهر على الأوراق مناطق شاحبة تتبادل مع مناطق خضراء داكنة، وتتقعر المناطق الداكنة. وينتج عن ذلك عدم انتظام في نمو النصل، ويمتد الشحوب إلى حواف الوريقات، وتكون العروق شفافة Vein clearing. وتلتف حواف الوريقات إلى أسفل، وتقصر أعناق الأوراق. ويصحب ذلك تقزم النبات وزيادة النموات الخضرية على الساق كما تتشوه القرون والثمار.

ومن الأصناف القابلة للإصابة جيزة -٣ والسويسـري الأبيض Swiss blanc ، ومونت كالم Mount calm ، وكنتاكي وندر Kentucky wonder ، ورفيوجي عديمة الخيط Stringless Refugee ، على حين أن أصناف كونتندر Contender ، وأيداهـو رفيوجـي تكون مقاومة للمرض.

(١٦,٦,٧) المكافحة:

١ - استخدام أصناف مقاومة.

٢ - استخدام بذور خالية من الفيروس.

٣ - إجراء الفحص الحقلي المستمر وإعدام النباتات المصابة.

الفصل السابع عشر

فيروسات الإنسان والحيوان
Human and Animal viruses

من المعروف أن الفيروسات تتطفل على جميع الكائنات الحية بلا استثناء، ولا يوجد أي كائن حي دون أن يتطفل عليه فيروس، وربما عشرات الفيروسات. كما أن الإنسان عرضة للإصابة بمئات من الفيروسات التي تصيبه دون سواه من الأحياء أو تشاركه في ذلك بعض الحيوانات. وبعض الفيروسات ذات تخصص عال، إذ أنها تصيب نوعًا واحدًا، فقط، أو حتى سلالة واحدة، فقط، من نفس الكائن (أي أنها وحيدة التكافؤ). وبعضها الآخر يصيب عدة أجناس أو أنواع أو سلالات (عديدة التكافؤ). ومن ناحية أخرى، تصيب مجموعة ثالثة من الفيروسات الحيوانية العديد من العوائل المتباعدة الصلات Distantly related من المجموعة الأحيائية نفسها أو من مجموعات مختلفة.

ويمكن تقسيم الفيروسات تبعًا للمجموعات الأحيائية التي تصيبها إلى:

١ - فيروسات الإنسان والحيوان.

٢ - فيروسات النبات.

٣ - فيروسات البكتيريا والمايكوبلازما.

٤ - فيروسات الحشرات.

٥ - الفيروسات التي تصيب المجموعات الأحيائية الأخرى مثل فيروسات الفطريات وفيروسات الأوليات...إلخ.

(١٧,١) تقسيم فيروسات الإنسان والحيوان

Classification of human and amimal viruses

تنقسم الفيروسات التي تصيب الإنسان والحيوان تبعا لقواعد اللجنة الدولية لتسمية الفيروسات وتقسيمها Intrernational Committee on Nomenclature and Classification of Viruses (ICNM) وتتضمن :

١ - نوع الحامض النووي N.A.

٢ - الشكل الظاهري والتماثل Symmetry.

٣ - وجود غلاف Envelope أو غيابه.

٤ - الوزن الجزيئي للفيريون وللحامض النووي.

٥ - عدد الجينات = Genes = الموروثات وطبيعتها وعلاقتها بالتعبير عن الجين.

٦ - تفاعلات الفيروس والعائل Virus-host interactions.

إن بعض الفيروسات تسبب أمراضًا خطيرة للإنسان وللحيوان على مستوى العالم كله ؛ لأنها تسبب وبائيات عالمية Pandemics ، وبعضها الآخر يتسبب في وبائيات Epidemics قاصرة على دولة معينة أو منطقة جغرافية معينة. وربما يتسبب فيروس ما في وبائيات في مناطق مختلفة داخل الدولة الواحدة أو في موسم أو مواسم معينة. ويوجد في بعض بلدان العالم ، أيضًا ، فيروس أو فيروسات متوطنة Endemic بصفة مستمرة.

وترجع أقدم سجلات الأمراض الفيروسية إلى الحضارة المصرية القديمة ، إذ توجد نقوش بارزة للوحة تبين كاهنًا مصريًا له ساق ضامرة ونحيفة ومقوسة بالمقارنة بالساق الثانية مما يدل على أنه عانى الإصابة بمرض شلل الأطفال Poliomyelitis. أما مومياء الملك رمسيس الخامس ، فإنها تبين على وجهه ندبات وحفرًا غائرة مما يدل على أن الملك قد أصيب بفيروس الجدري Smallpox ، وربما يكون قد سبب وفاته.

ومن أشهر الأمراض في العالم ، بصفة عامة ، والعالم العربي ، بصفة خاصة ، شلل الأطفال Poliomyelitis ، والحصبة Measles ، والجدري Smallpox ، (أول مرض فيروسي يستأصل تمامًا من العالم بفضل جهود منظمة الصحة العالمية WHO نتيجة تعميم التطعيم Vaccination على كل الدول في وقت واحد ١٩٧٦م. وقد تجددت

حملة دولية ثانية للقضاء على شلل الأطفال بحلول عام ٢٠٠٠م). وفيروسات الغدة النكفية Mumps ، والحمى الصفراء Yellow fever ، وحمى غرب النيل West Nile fever ، وحمى الدنج Dengue fever ، والإنفلونزا Influenza ، وفيروس الدمج الخلوي التنفسي Respiratory syncytial virus ، وفيروس روتا المسبب لإسهال الأطفال Rota virus of infantile diarrhoea ، والحصبة الألمانية Rubella والقوباء Herpes وفيروس الغدد أدنو Adeno ، وفيروس السعار Rabies ، وفيروسات البرد العادي Common cold viruses ، وفيروسات بارا إنفلونزا Parainfluenza ، وفيروس مضخم الخلايا Cytomegalovirus ، وفيروس نيوكاسل (شوطة) الدواجن Newcastle disease virus ، وفيروس طاعون الخيل الأفريقي Africal horse sickness virus ، وفيروس الطاعون البقري Rinderpest (Cattle plague) ، وفيروس الحمى القلاعية Foot and mouth disease وفيروسات سرطان خلايا الدم البيضاء Leukosis ، ومرض زرقة اللسان في الغنم Blue tongue disease ، وفيروس حمى الوادي المتصدع Rift valley fever virus ، وفيروس إسهال عجول الماشية Foctal calf diarrhoea ، (فيروس روتا Rota) ، وفيروس نقص المناعة المكتسبة في الإنسان Human immunadeficiency virus (HIV) ، والمسبب لمرض الأيدز AIDS ، وغيرها كثير وكثير... إلى إيبولا Ebola الذي تفجر في وباء قاتل مرة ثانية في زائير في مايو ١٩٩٥م وأثار الرعب في العالم.

(١٧,٢) عائلات الفيروسات الحيوانية

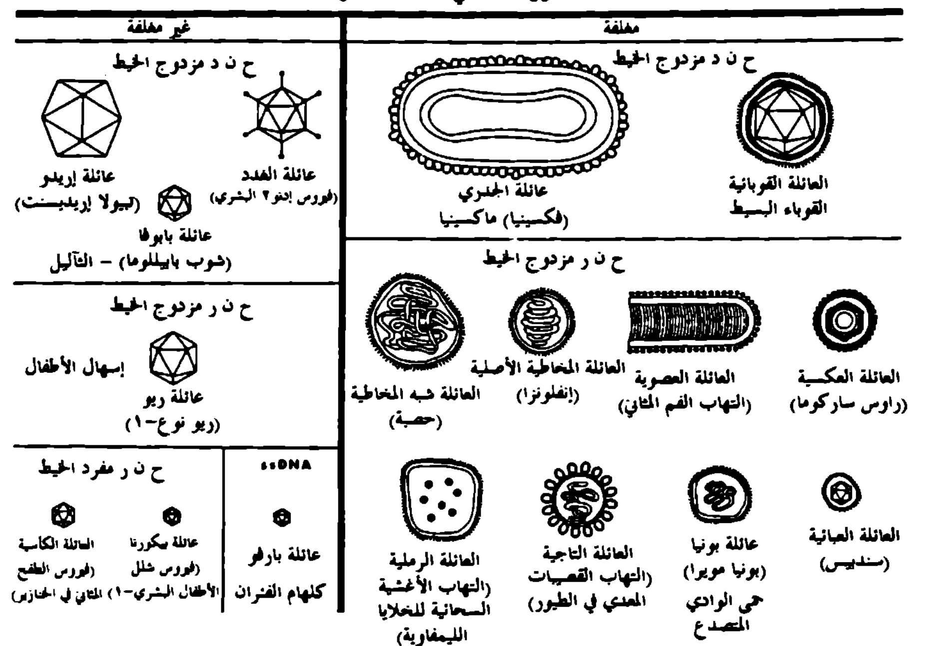
Families of animal viruses

تتنوع أشكال وأنواع الفيروسات الحيوانية حسب العائلات التي تنتمي إليها (الشكل ٤٤ و ٤٥).

(١٧,٢,١) عائلات فيروسات ح ن ر RNA families viruses:

(١٧,٢,١,١) عائلة بيكورنا Picornaviridae: عائلة فيروسات ح ن ر الصغيرة.

١ - الحامض النووي: ح ن ر مفرد الخيط s.s-RNA مكون من جزيء واحد.



الشكل رقم (٤٤). عائلات الفيروسات التي تصيب الفقاريات (عن ماثيوز ١٩٨٢م).

٢ - قطر الدقيقة الفيروسية: ٢٠ - ٣٠ نانومترًا.

٣ - غير مغلفة Non-enveloped.

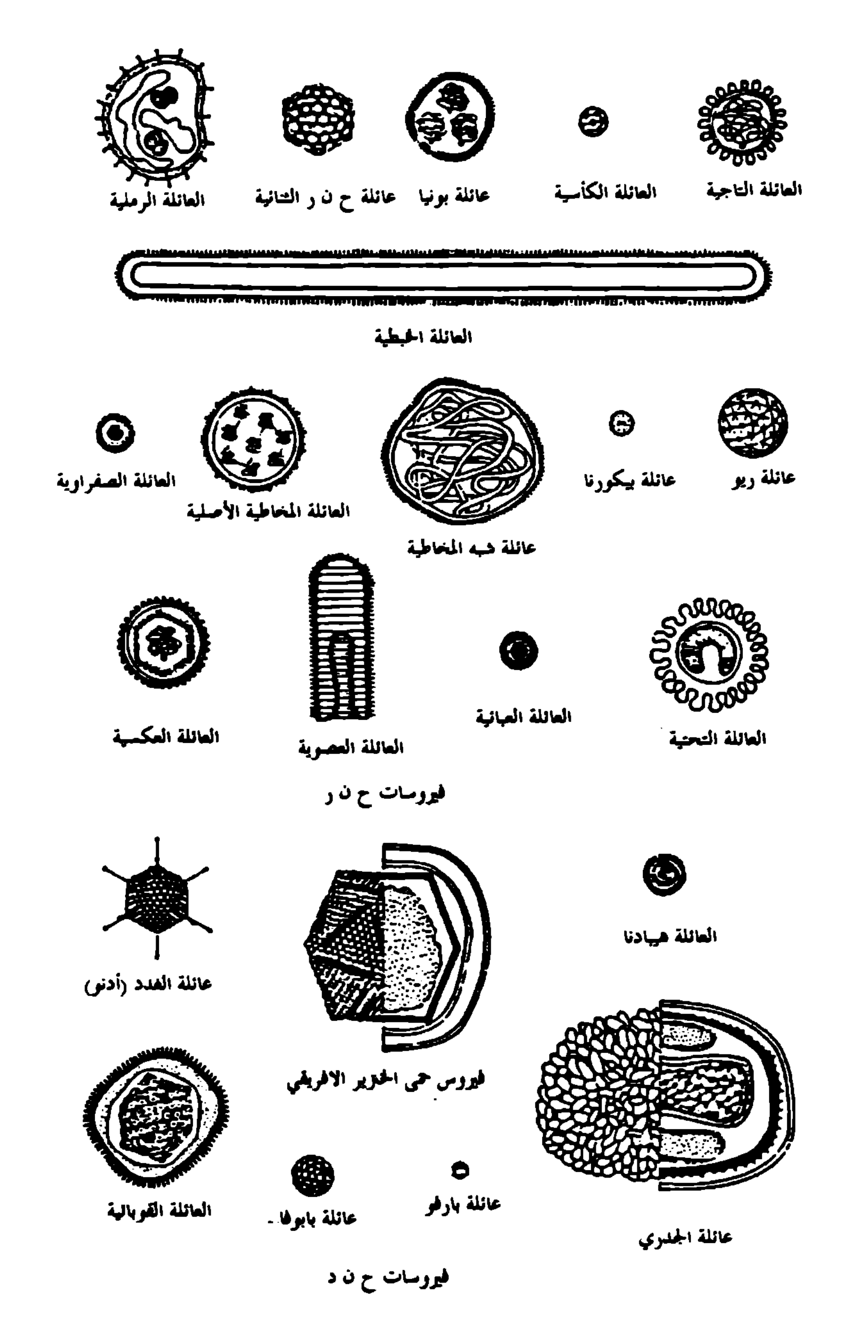
٤ - التماثل Symmetry : مكعبي إيكوزاهيدرالي Icosahedral.

٥ - الوزن الجزيئي ٢,٥١×١٠^٦ دالتون.

٦ - موضع التكاثر: في السيتوبلازم.

٧ - الأجناس:

(أ) حشوية Enteroviruses مثل شلل الأطفال وفيروس إيكو Echo ، وفيروس كوكساكي Coxsackie.



الشكل رقم (٤٥). أشكال الفيروسات الحيوانية وأحجامها وتركيبها (بورترفيلد ١٩٨٩م).

(ب) فيروسات الرشح Rhino viruses : فيروسات البرد العادي Common cold viruses ، وفيروس الحمى القلاعية Foot - and - Mouth Disease (FMDV) في الماشية.

٨ - وضعها في تقسيم بالتيمور Baltimore : قسم ٤ والمورث (+) موجب، ولا يحتاج نسخًا ولكن يترجم مباشرة، ولا يحتوي الفيروس على انزيم للنسخ Transcriptase.

(١٧,٢,١,٢) العائلة العبائية (توجا) Togaviridae:

١ - الحامض النووي: ح ن ر مفرد الخيط s.s-RNA مكون من جزيء واحد.

٢ - قطر الدقيقة الفيروسية ٤٠ - ٧٠ نانومترا.

٣ - مغلفة Enveloped.

٤ - تماثل المحفظة النووية Nucleocapsid إيكوزاهيدرالي.

٥ - يلزن Haemagglutinate خلايا الدم الحمراء.

٦ - الوزن الجزيئي ٤ × ١٠^{٦} دالتون.

٧ - الانتقال: ينتقل الكثير منها بوساطة المفصليات Arthoropods كالحشرات، وتوضع في مجموعة حيوية تحت اسم: الفيروسات المنقولة بالمفصليات ARBO viruses ، اختصار الـ Arthropod Borne viruses.

٨ - الأجناس:

١ - جنس فيروسات ألفا Alpha virus : وتمثل مجموعة الفيروسات المنقولة بالمفصليات Group A arbo viruses مثل فيروس سندبيس Sindbis (المعزول من قرية سندبيس بمحافظة القليوبية بمصر) وفيروس غابة سيمليكي Semliki forest virus.

٢ - جنس فيروسات فلافي Flavivirus ، وتمثل مجموعة - ب للفيروسات المنقولة بالمفصليات Group B arbo viruses مثل: فيروس الحمى الصفراء Yellow

fever virus ، وإن كـان يصنـف - الآن - في عائلـة مسـتقلة باسـم العائلـة الصفراوية Flaviviridae.

٣ - جنس بستي Pesti virus ، ويمثله فيروس كوليرا الخنزير Hog cholera virus الذي لا ينتقل بالمفصليات. وإن كان يفضل الآن وضعه في عائلة مستقلة تسمى عائلة الحصبة الألمانية Rubiviridae.

٤ - جنس روبيللا Rubella virus : فيروس الحصبة الألمانية Rebella ، وهو فيروس لا ينتقل بالمفصليات.

٩ - وضعها في تقسيم بالتيمور: تتبع قسم ٤ والمورث (+) موجب، ويترجم مباشرة دون الحاجة لنسخ، ولا يحتوي الفيروس على إنزيم للنسخ Transcriptase.

(١٧,٢,١,٣) عائلة رابدو Rhabdoviridae: العصوية

١ - الحامض النووي ح ن ر مفرد الخيط قطعة واحدة.

٢ - قطر الدقيقة ٧٠ × ١٣٠ - ٣٠٠ نانومتر.

٣ - شكلها: شكل الرصاصة Bullet-shaped.

٤ - مغلفة Enveloped ، وتحاط بأشواك Spikes طولها ١٠ نانومترات، ومن نوع واحد.

٥ - التماثل حلزوني Helical بالنسبة للمحفظة النووية Nucleocapsid.

٦ - الوزن الجزيئي: ٣,٥ - ٤,٦×١٠^٦ دالتون.

٧ - موضع التكاثر: السيتوبلازم.

٨ - الأجناس: التهاب الفم المثاني Vesicular stomatitis ، والسعار Rabies ، والنزف الدموي في السلحفاة Haemorrhagic septicemia ، وفيروس سيجما Sigma في الحشرات، وفيروس الاصفرار النخري في الخس Lettuce necrotic yellow ، وفيروس التقزم الأصفر في البطاطس Potato yellow dwarf.

٩ - وضعها في تقسيم بالتيمور: قسم (٥) يحتوي على مورث (-) سالب، ويوجد معه إنزيم النسخ Transcriptase.

(١٧,٢,١,٤) العائلة التاجية Coronaviridae (Corona = crown):

١ - الحامض النووي: ح ن ر مفرد s.s-RNA جزيء واحد.

٢ - قطر الدقيقة ٧٠ - ١٢٠ نانومترًا.

٣ - مغلفة.

٤ - شكل الدقيقة يكاد يكون دائريًا، والأشواك منتفخة متباعدة تعطي شكل التاج.

٥ - التماثل: حلزوني في المحفظة النووية.

٦ - الوزن الجزيئي ٦ - ٨ × $١٠^{٦}$ دالتون.

٧ - موقع التكاثر: في السيتوبلازم.

٨ - الأجناس: فيروس التهاب الشعب الهوائية في الطيور المعدي Avian infectious bronchitis virus (IBV)، وفيروس الإنسان التاجي Human corona virus، وفيروس الالتهاب الكبدي في الفئران Murine hepatitis virus، وفيروس التلزن الدموي السحائي في الخنازير Procine haemagglutinating encephalitis، والفيروس التاجي لإسهال العجول حديثي الولادة Neonatal calf diarrhoea corona virus.

٩ - وضعها في تقسيم بالتيمور: قسم ٤ والمورث موجب (+) ولا يحتاج نسخًا، ولكن يترجم مباشرة ولا يحتوي الفيروس على إنزيم للنسخ Transcriptase.

(١٧,٢,١,٥) العائلة الرملية Arenaviridae (Arena = sandy)

١ - الحامض النووي ح ن ر مفرد الخيط s.s-RNA من ٥ - ٧ قطع منها قطعتان أساسيتان واحدة كبيرة (L)، والأخرى صغيرة (S). ويحتمل أن تكون باقي القطع من أصل العائل.

٢ - قطر الدقيقة ٥٠ - ٣٠٠ نانومتر (المتوسط ١١٠ - ١٣٠نانومتر).

٣ - مغلفة يخرج منها زوائد Spikes صولجانية Club-shaped طولها ١٠ نانومترات.

٤ - شكل الدقيقة: غالبًا مستديرة إيكوزاهيدرالية، لكن بعضها متغير الشكل Pleomorphic، تحتوي على حبيبات مثل الرمل على شكل ريبوزومات Ribosomes من خلايا العائل ٢٠ - ٢٥ نانومترًا.

٥ - الإنزيمات - الموجودة بها: إنزيم النسخ Transcriptase، مرتبطًا بمعقد الحامض النووي البروتيني RNP مثلما في فيروس بيشيندي Pichinde، وإنزيم بلمرة عديد اليوراسيل Poly (U) polymerase، وإنزيم بلمرة عديد الأدينين Poly (A) polymerase في بعض الفيروسات وأصلها من الخلية وليس لها دور في تكاثر الفيروس.

٦ - موضع التكاثر: في السيتوبلازم.

٧ - الوزن الجزيئي: ٥,٥×١٠^٦ دالتون.

٨ - الأجناس:

(أ) فيروس الخلايا الإلتهاب السحائي الليمفاوي الذي يصيب الفئران Lymphocytic choriomeningitis virus (LCM)، ويكون قاتلاً، أيضًا، للإنسان.

(ب) فيروس لاسّا Lassa virus.

(جـ) فيروس جنين Junin virus.

(د) فيروس ماشوبو Machupo virus.

(هـ) فيروس بيشيندي Pichinde.

(و) فيروس تاكاريب Tacharibe virus.

٩ - وضعها في تقسم بالتيمور: قسم (٥) مثل عائلة رابدو. وبذا، فهي ذات مورث سالب (-)، وتحتوي على إنزيم النسخ الخاص بها.

١٠ - الانتقال Transmission: عموديًا Vertically عبر الرحم Transuterine، وعبر البيض Transovarian، وبعد الوضع Postpartum من خلال الحليب واللعاب أو البول، كذلك يمكن أن يكون هناك نقل جنسي Venereal داخل النوع نفسه.

(١٧,٢,١,٦) عائلة بونيا Bunyaviridae:

(نسبة إلى بونياموبرا Bunyamwera، مكان في أوغندا).

١ - الحامض النووي: ح ن ر مفرد الخيط s.s-RNA من ثلاث قطع كبيرة (L) ومتوسطة (M) وصغيرة (S).

٢ - قطر الدقيقة: ٩٠ - ١٠٠ نانومتر.

٣ - مغلفة: توجد عليها أشواك Spikes من الجليكوبروتين.

٤ - شكل الدقيقة: كروية Spherical إلى بيضاوية Ovoidal، يوجد بداخلها ثلاث قطع من الريبونيكليوبروتين RNP دائرية Circular، ملفوفة حلزونيًا Long helical strand.

٥ - الإنزيمات الموجودة بها: إنزيم النسخ.

٦ - موضع التكاثر: السيتوبلازم، وتنضج بالتبرعم من أغشية جهاز جولجي.

٧ - الوزن الجزيئي: 6×10^{6} دالتون.

٨ - وضعها في تقسيم بالتيمور: قسم ٥ مثل عائلة رابدو والعائلة الرملية.

٩ - الأجناس: فيروس بونيا Bunyavirus، وفيروس حمى ذباب الرمل Sandfly fever (Phlebovirus)، وفيروس مرض نيروبي للغنم Nairobi sheep disease، وفيروس أوكيونيمي Uukuniemi virus، وأنوفيليس (أ) Anopheles A virus، وأنوفيليس (ب) Anopheles B virus، وفيروس بوامبا Bwamba virus، وفيروس مدريد Madrid virus، وفيروس كاليفورنيا للالتهاب السحائي California virus encephalitis، وفيروس لاكروس La crosse viruse، وفيروس مطروح Matruh ovirus وفيروس حمى الوادي المتصدع Rift valley fever virus، وفيروس أرومووت Arumowot virus، وفيروس كريم أباد Karimabad virus، وفيروس حمى القرم-الكنغو النزفية Crimean-Congo haemorrhagic fever (CHF) virus، وفيروس أبو حمد Abu Hammad virus، وفيروس قليوب Qalyub virus، وفيروسات جنس هانتا Hanta viruses: وتضم فيروسات هانتان Hantaan، وسيئول Seoul، ويروسبكت هيل Prospect Hill، ويبومالا Puumala: وهي تسبب أمراضًا وبائية في الكلى وفشلاً كلويًا.

١٠ - النقل: يوجد العديد من الناقلات Vectors مثل البعوض Mosquitoes، والقراد Ticks، وذباب الرمل Phlebotomus (وهذه من أهم مشكلات هذه العائلة).

وينتقل، أيضًا، خلال بيض تلك المفصليات Transovarian، ومن خلال الاتصال الجنسي Venereal.

(١٧,٢,١,٧) عائلة باراميكسو (الشبه مخاطية) Paramyxoviridae:

١ - الحامض النووي: ح ن ر مفرد الخيط s.s-RNA قطعة واحدة.

٢ - قطر الدقيقة: ١٥٠ - ٢٥٠ نانومترًا.

٣ - مغلفة: يوجد عليها نوع واحد من الأشواك طوله ٨ نانومترات، وعلى مسافات بعضها ٨ - ١٠ نانومترات، تحتوي على جليكوبروتين، وتسمى أشواك التلزن Hemagglutinin، كما تحتوي على شوكة صغيرة F للدمج الخلوي Cell fusion.

٤ - شكل الدقيقة: متغير Pleomorphic لكنه كروي Spherical تقريبًا، النيكليوكابسيد حلزوني Helical التماثل، قطره ١٢ - ١٧ نانومترًا.

٥ - الإنزيمات: يوجد إنزيم النسخ كما أن للأشواك قدرة إنزيمية.

٦ - موضع التكاثر: السيتوبلازم.

٧ - الوزن الجزيئي: ٨,٥×١٠^٦ دالتون.

٨ - الأجناس:

١ - جنس بارميكسو Paramyxo virus.

ويضم: فيروس نيوكاسل (فرة الدواجن) Newcastle disease virus.

الغدة النكفية Mumps.

بار إنفلونزا - ١ (سينداي)	Parainfluenza-1	الإنسان والفئران
بار إنفلونزا - ٢	Parainfluenza-2	الإنسان
بار إنفلونزا - ٣	Parainfluenza-3	الإنسان والطيور
بار إنفلونزا - ٤	Parainfluenza -4	الإنسان
بار إنفلونزا - ٥	Parainfluenza -5	الطيور والقرود والقطط

وتتميز هذه دون الأجناس الأخرى بنشاط إنزيم نيورامينيديز Neuraminidase.

٢ - جنس موربيللي Morbilli virus ، ويضم :

- الحصبة Measles.
- الطاعون البقري Rinderpest.
- وفيروس سل القطط Canine distemper.

٣ - جنس نيمو Pneumo virus ويضم :

- فيروس الدمج الخلوي التنفسي Respiratory syncytial virus ، (لا يلزن كريات الدم الحمراء).
- فيروس الدمج الخلوي البقري Bovine syncytial virus.

٩ - وضعها في تقسيم بالتيمور: قسم (٥) مثل عائلات رابدو والرملية وبونيا والمورث سالب (-)، وتحتوي على إنزيم النسخ.

(١٧,٢,١,٨) عائلة أورثوميكسو Orthomyxoviridiae العائلة المخاطية الأصلية:

١ - الحامض النووي: ح ن ر مفرد الخيط s.s-RNA مجزأ من ٦ - ٨ قطع.

٢ - قطر الدقيقة: ٨٠ - ١٢٠ نانومتر متغيرة الشكل Pleomorphic.

٣ - مغلفة: يوجد عليها نوعان من الأشواك: أشواك التلزن Haemagglutinin ١٤ نانومترًا (HA)، وأشواك نيورامينيديز Neuraminidase (NA) ١٠ نانومترات.

٤ - شكل الدقيقة: تكون متطاولة عصوية في أول عزلها، وبالتمرير في الزراعة، تتحول إلى كروية - متغيرة الشكل، يلي الغلاف نيوكليوكابسيد حلزوني التماثل ٩ - ١٥ نانومترًا، يتراوح طولها مابين ٥٠ - ١٣٠ نانومترًا مجدولة لها عقدة Loop عند طرفيها.

٥ - الإنزيمات:

١ - نيورامينيديز في شوكة خاصة خارج الغلاف.

٢ - إنزيم النسخ مع RNP.

٦ - موضع التكاثر في السيتوبلازم، ولكنه يحتاج لوجود النواة.
٧ - الوزن الجزيئي ٤ × ١٠^{٦} دالتون.
٨ - وضعها بالنسبة لنظام بالتيمور: قسم (٥) مثل عائلات رابدو والرملية وبونيا وباراميكسو. المورث سالب (-)، ويحتوي على إنزيم النسخ.
٩ - الأجناس: جنس واحد هو الإنفلونزا Influenza. يوجد منه أنواع Types، هي أ، ب، ج. تمثيل نوع أ: (A/ws /33 (Ho N1، إذ عزل من وسكونسون عام ١٩٣٣م والهيموأجلوتينين رقمة صفر والنيوراميديز رقمه ١. تصنف أنواع الإنفلونزا إلى أ، ب، ج. على أساس الأنتيجينات Antigens الذائبة Soluble الفيروسية الممثلة للنيكليوبروتين RNP. أما أنتيجينات السطح NA، HA فتستخدم في تعريف السلالات Strains لأي نوع. إنفلونزا (أ) تصيب الإنسان، وإصابته الحيوان أكثر شيوعًا، وإنفلونزا(ب) تصيب، أيضًا، الإنسان، وإصابته تصيب بعض الحيوانات. أما ج. فغير معروفة إمراضيتها للإنسان.

(١٧,٢,١,٩) عائلة ريو Reoviridae الفيروسات التنفسية المعوية للأطفال:

١ - الحامض النووي: ١٠ - ١٢ قطعة من ح ن ر مزدوج الخيط d.s-RNA، مجزأ.
٢ - قطر الدقيقة: ٦٠ - ٨٠ نانومترًا.
٣ - غير مغلفة.
٤ - شكل الدقيقة: مكعبية إيكوزاهيدرالية التماثل. يتميز الغطاء (Capsid) بوجود صدفتين Shells، خارجية وداخلية بكل عدد ثابت من الكابسوميرات.
٥ - الإنزيمات: إنزيم النسخ.
٦ - موضع التكاثر: السيتوبلازم.
٧ - الوزن الجزيئي ١٠٠- ١٢٠×١٠^{٦} دالتون.
٨ - وضعه بالنسبة لنظام بالتيمور: قسم (٣) ويتم النسخ بإنزيم النسخ الفيروسي من على الخيط السالب (-) من خيطي المورث.

الأجنـــاس:

١ - جنس مجموعة فيروس ريو Reovirus. نوع فيروس ريو -١ Reovirus. الفيروس وأنواعه ١،٢، ٣ تصيب الإنسان والقرود، والكلاب، والماشية والطيور.

٢ - جنس مجموعة أوربي Orbivirus، والممثل لها فيروس اللسان الأزرق في الأغنام Blue tongue disease virus. مدى العوامل: الحشرات وغيرها من المفصليات، والفقاريات. وتشمل الإنسان والخيول والقرود والأرانب والماشية والأيائل Deers والفئران الرضيعة Suckling mice. كما تنتقل بالبعوض، وحشرات ذبابة الرمل والقراد، ومن أمثلتها فيروس حمى قراد كولورادو Colorado tick fever، وفيروس شنودة Chenuda virus (عزبة شنودة محافظة كفر الشيخ)، وكيموروفو Kemerovo، وترابيبك Tribec، وواد مدني Wad Medeni، وفيروس طاعون الخيول الأفريقي Africal horse sickness (٥ مجموعات مصلية).

٣ - جنس روتا Rotavirus والممثل له فيروس روتا في الإنسان Human rotavirus، ويصيب الثدييات والإنسان والفئران والعجول Calves والخنازير الصغيرة Piglets والماعز والأغنام الصغيرة (الحامض النووي ١١ قطعة)، الوزن الجزيئي ٠٢-٢٠٢ × ١٠[٦] دالتون.

٤ - جنس ريو لفيروسات النبات تحت مجموعة (١)-1 Plant reovirus subgroup مثل فيروس السرطان الجرحي Wound tumor virus، والذي يصيب البرسيم الحلو، وينتقل بنطاط الورق Leaf hopper، وفيروس تقزم الأرز Rice dwarf virus(RDV). ويمكن تنمية الفيروس في خطوط خلوية من أنسجة جنين الناقل. جنس ريولفيروسات النبات تحت مجموعة(٢) Plant reovirus subgroup 2 مثل فيروس مرض فيجي Figi disease virus الذي يصيب قصب السكر والنجيليات، وفيروس التقزم الخشن في الذرة Maize rough dwarf virus، وفيروس تقزم الأرز أسود التخطيط Rice black streaked dwarf virus.

٥ - جنس فيروسات التعدد الضلعي في السيتوبلازم Cytoplasmic polyhedrosis group مثل فيروس التعدد الضلعي في سيتوبلازم دودة الحرير Cytoplasmic polyhedrosis virus of *Bombyx mori*.

(١٠,١,٢,١٧) العائلة العكسية Retroviridae = الرجعية = القهقرية:

(سابقًا عائلة ح ن ر السرطانية Oncornaviridae).

١ - الحامض النووي: ح ن ر مفرد الخيط s.s-RNA من جزءين متماثلين مرتبين عكس بعضهما.

٢ - قطر الدقيقة: ٨٠ - ١٠٠ نانومتر.

٣ - مغلفة: غلاف دهني معقد به جليكوبروتين مكونًا أشوكًا أو عقدًا منتفخة Knobs.

٤ - شكل الدقيقة: كروية التركيب الداخلي شكلها إيكوزاهيدرالي، ويحتوي الغطاء على بروتين نووي (RNP) حلزوني. وفي القطاع العالي الرقة بالمجهر الإلكتروني، تبدو أولاً الأشواك المنتفخة ثم الغلاف، ثم الصدفة الداخلية Inner shell، ثم النيوكليويد المركزي Central nucleoid، ويكون النيوكليويد مستقرًا في الوسط في وضع لامركزي Acentrically من نوع ب من تحت عائلة Oncovirinae، ويكون مركزيًا Concentrically في نوع ج من Oncovirinae. وتحتوي المادة الوراثية على ثلاثة جينات رئيسية هي جاج Gag الذي يشفر للبروتين الفيروسي الداخلي غير المحتوي على سكر Nonglycosylated، وجين بول Pol، وهو يشفر لإنزيم النسخ العكسي Reverse transcriptase (R-T)، وجين إنف Env، ويشفر للبروتينات السكرية Glycoproteins في الغلاف. وترتيب الجينات: ٥َ جاج، بول، إنف -٣َ

٥ - الإنزيمات: إنزيم النسخ العكسي Reverse transcriptase.

٦ - موضع التكاثر: السيتوبلازم، وهناك خطوة التحام في النواة بعد أن يتحول المورث إلى ح ن د DNA بإنزيم النسخ العكسي.

٧ - يوجد في المحور إنزيم التكامل (الالتحام) Integrase، وإنزيم محلل البروتين (بروتييز) Protease.

٨ - تنقسم العائلة إلى ٣ تحت عائلات هي:

(أ) تحت العائلة السرطانية Oncovirinae: وتضم فيروسات: لوكيميا الأبقار Bovine leukosis virus، وفيروسات ساركوما ولوكيميا في القطط Feline sarcoma and leukemia viruses، وسرطان الثدي في الفئران Mouse mammary tumour virus، وفيروس ماسون-فايزر في القرود Mason-Pfizer mokney virus.

(ب) تحت العائلة الفجوية Spumavirinae: وهي تسبب تكوين فراغات أو فجوات في الخلايا، ولكنها لا تستحث على تحويل Transform الخلايا في المعمل ولا تسبب أورامًا في الحيوانات. ومن أمثلتها: فيروس الدمج الخلوي البقري Bovine syncytial virus، وفيروس الدمج الخلوي في القطط Feline syncytial virus، والفيروس الرغوي في الإنسان Human foamy virus، والفيروس الرغوي في القرود Simian foamy virus.

(جـ) تحت العائلة البطيئة Lentivirinae. وتضم مجموعة مائيدي - فيزنا Maedi-visna في الغنم والالتهاب الرئوي المتقدم Progressive pneumonia، وفيروس نقص المناعة المكتسبة البشري Human immuoodeficiency virus (HIV) المسبب لمرض الأيدز AIDS، وفيروس نقص المناعة المكتسبة في القرود Simian immunodeficiency virus (SAIDS).

(١١, ١, ٢, ١٧) العائلة الكأسية Caliciviridae:

الدقائق الفيروسية إيكوزاهيدرالية التماثل وذات شكل كروي تقريبًا، قطرها ٣٥ - ٣٩ نانومترًا، يوجد على سطحها ٣٢ انخفاضًا فنجاني الشكل مرتبة في تماثل إيكوزاهيدرالي والمورث (الجين = Genome) من ح ن ر مفرد الخيط موجب المعنى Positive-sense s.s-RNA، وهو معدٍ. ووزنه الجزيئي ٢,٦ - ٢,٨×١٠^٦ دالتون،

ينتهي بعديد الأدينين poly. A عند الطرف ٣َ. وهي غير مغلفة ولا تحتوي على دهون أو كربوهيدرات.

يتكاثر الفيروس وينضج في السيتوبلازم، ويسبب تحللاً للخلايا.

وتضم الفيروسات الكأسية:

١ - فيروس الطفح المثاني في الخنازير Vesicular exanthema of swine virus (VESV)، نحو ١٣ نوعًا مصليًا.

٢ - الفيروسات الكأسية الهرية Feline caliciviruses (FCV).

٣ - فيروس سان ميجيل في سبع البحر San Miguel Seal Virus (SMSV). ٨ أنواع مصلية أو أكثر.

٤ - فيروس نورووك Norwalk (نسبة لمدينة بأمريكا) يسبب إسهالاً في الإنسان، ومرض قيء الشتاء Winter vomiting.

٥ - فيروسات الأسماك والكلاب.

(١٢,١,٢,١٧) العائلة الخيطية Filoviridae:

الفيروسات خيطية Filamentous، وأحيانًا متفرعة، مغلفة. الفيريونات نحو ٨٠ نانومترًا في القطر، وتصل إلى ١٤٠٠ نانومتر في الطول. المورث جزيء واحد من ح ن ر مفرد الخيط s.s-RNA سالب المعنى، وزنه الجزيئي ٤,٢×١٠٦ دالتون، ويشفر لـ٧ أنواع من البروتينات. وتضم فيروسين متشابهين شكليًا لكنهما يختلفان مصليًا هما ماربورج Marburg virus، وإيبولا Ebola virus. وكلاهما يسببان حمى نزفية Haemorrhagic fevers في الإنسان، وقد سبب الثاني وباء إيبولا القاتل الذي تكرر حديثًا في زائير (الكونغو) في مايوم ١٩٩٥م، وانتهى في نهاية أغسطس العام نفسه بعد أن أودى بحياة أكثر من ٢٥٠ شخصًا، وأثار الفزع في العالم.

ومن أمثلتها فيروسات:

١ - نخر البنكرياس المعدي Infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) الذي يصيب أنواعًا عديدة من السلاحف المائية والسالمون الأطلسي.

٢ - فيروس ثعبان السمك الأوربي European Eel Virus (EEV).

٣ - مرض جيب فابريشيا المعدي Infectious bursal disease virus (IBDV). الذي يصيب الدجاج وأحيانا الدجاج الرومي والبط والدجاج الذيال Pheasants.

(١٣,١,٢,١٧) العائلة الصفراوية Flaviviridae (Flavi = أصفر):

سبق أن ذكرنا في سردنا للعائلة العبائية أنها تنقسم إلى جزءين أحدهما يضم الفيروسات الصفراوية، لكنها الآن تعد عائلة في حد ذاتها:

الفيريونات كروية نحو ٤٥ نانومترًا في القطر، يضمها غلاف Envelope تمتد منه امتدادات سطحية (أشواك) Surface projections، تتكون من بروتين الغلاف الوحيد E، والذي يكون، عادة، مضافًا له سكر Glycosylated. وتنغرس زوائد الغلاف في دهن مشتق من العائل مرتبط ببروتين الغشاء M الذي يحيط بمورث من ح ن ر مفرد متكيسًا ببروتين المحور Core protein. والمورث هو خيط مفرد من ح ن ر موجب المعنى s.s-RNA + وزنه الجزيئي نحو ٤×١٠^٦ دالتون، له قلنسوة Cap عند الطرف ٥َ ووظيفته الوحيدة أن يعمل مرسالاً Messenger. ويبدأ تتابع الجينات هكذا: 5َ-C-prM-(M)-E-NS1-NS21-NS3-NS4-NS5-3َ وتختلف سياسات التكاثر والتشكيل Morphogenesis عن فيروسات العائلة العبائية التي كانت تقسم تحتها سابقًا. وتصيب فيروسات العائلة الصفراوية مدى واسعًا من الحيوانات الفقارية حيث تنقل في معظمها بوساطة المفصليات Arthropods.

ويشتق اسم العائلة من اللاتينية إذ تعني flavus = أصفر yellow من بعد فيروس الحمى الصفراء. وتضم هذه العائلة جنسًا واحدًا هو جنس فلافي Flavivirus،

والذي يضم النوع الممثل، وهو فيروس الحمى الصفراء بالإضافة إلى نحو ٧٠ نوعًا آخر (انظر الجدول رقم٧) ويوجد فيروسان محتملان هما *Aedes albopictus* agent، وفيروس الحمى النزفية في القرود Simian haemorrhagic fever virus.

ويرتبط بالفيروسات الصفراوية إصابات بدون عدوى في مدى واسع، ثم بدءًا من الأمراض الحمية والحميات المصحوبة بالطفح/ أو آلام المفاصل إلى الحميات النزفية والالتهابات الكبدية والالتهابات المخية التي قد تؤدي إلى الموت.

(١٧,٢,١,١٤) عائلة الفيروسات التختية Toroviridae:

تبدو الفيروسات ذات شكل كروي أو بيضاوي أو يشبه الكُلى. ذات قطر يتراوح مابين ١٢٠-١٤٠ نانومترًا، ويرى الغطاء النووي Nucleocapsid الداخلي عصويًا مخططًا Striated rod، وقد يكون مستقيمًا أو منحنيًا في شكل تخت Torus مفتوح، وتكون الدقيقة الفيروسية محاطة بغلاف تخرج منه أشواك تشبه عصى الطبلة Drum-stick like طولها ٨-٢٠ نانومترًا كما قد توجد حلقة ثانية من الأشواك. ويتكون المورث من ح ن ر مفرد الخيط s.s-RNA موجب المعنى.

وترتبط الفيروسات التختية بأمراض منها الإسهال في الأبقار وفي الإنسان، وفيروس برن Bern virus، والذي يسبب إسهالاً في الخيل. كما اكتشف فيروس بريدا Breda virus في براز الإنسان.

(١٧,٢,٢) عائلات فيروسات ح ن د

Familles of DNA Viruses

(١٧,٢,٢,١) عائلة بارفو Parvoviridae :

١ - الحامض النووي: ح ن د مفرد الخيط s.s-DNA جزيء واحد.

الجدول رقم (٧). يوضح العلاقة بين تحت مجموعات الفيروسات الصفراوية وطريقة التقاطها (بورترفيلد ١٩٨٩م).

الفيروسات المنقولة بالقراد		لا يوجد ناقل للفيروس		فيروسات تنتقل بالبعوض	
الفيروس	تحت المجموعة	الفيروس	تحت المجموعة	الفيروس	تحت المجموعة
كارشي Karshi	١	كيري آيلاند	١	الفوي Alfuy	٣
غابة كياسانور Kyasanur Forest	١	خفاش فنون بنه Phnom Penh bat	١	التهاب المخ الياباني .Japanese enc	٣
لانجات Langat	١	أبوي Apoi	٢أ	كيدوجو Kedougou	٣
مرض لوبنج Louping-ill	١	خفاش بوكالازا Bukalasa bat	٢أ	كوتانجو Kotango	٣
نيجيشي Negishi	١	خفاش داكار Dakar bat	٢أ	كانجين Kunjin	٣
أومسك Omsk	١	خفاش عنتيبي	٢أ	وادي موريبي Murray valley	٣
بواسان Powassan	١	ريو برافو Rio Bravo	٢أ	التهاب المخ سانت لويس .St Louis enc	٣
المزرعة الملكية Royal Farm	١	سابويا Saboya		ستراتفور Stratford	٣
				يوسوتو Usutu	٣
ميبان Meaban	١أ	كاوبون ريدج Cowbone Ridge	٢ب	غرب النيل West Nile	٣
سوماريز ريف Saumarez Reef	١أ	جوتيابا Jutiapa	٢ب	ياأوندي Yaoundi	٣
تايليني Tyuleniy	١أ	مودوك Modoc	٢ب	سباندويني Spandweni	٣
		سالفييجا Salvieja	٢ب	زيكا Zika	٤
		سان برليتا San Perlita	٢ب	باجازا Bagaza	٤

تابع الجدول رقم (٧).

الفيروسات المنقولة بالقراد		لا يوجد ناقل للفيروس		فيروسات تنقل بالبعوض	
الفيروس	تحت المجموعة	الفيروس	تحت المجموعة	الفيروس	تحت المجموعة
				الدندي الإسرائيلي Israel turkey (في فلسطين المحتلة)	٥
				نتايا Ntaya	٥
				تمبوسو Tembusu	٥
				يوكوز Yokose	٥
				بانزي Banzi	٦
				بوبوي Bouboui	٦
				ادج هيل Edge Hill	٦
				باتسكام Patiskum	٦
				أوغندا إس Uganda S	٦
				الدنجي – ١ Dengue - 1	
				الدنجي –٢ Dengue - 2	
				الدنجي – ٣ Dengue -	
				الدنجي – ٤ Dengue – 4	
جادجيتس جلي Gadgets gully	u	أوروا Aroa	u	باسوكوارا Bussuquara	u

تابع الجدول رقم (٧).

الفيروسات المنقولة بالقراد		لا يوجد ناقل للفيروس		فيروسات تنقل بالبعوض	
الفيروس	تحت المجموعة	الفيروس	تحت المجموعة	الفيروس	تحت المجموعة
كادام	u	باتوكيف Batu Cave	u	إلياس Ilheus	u
		كاسيباكور Cacipacore	u	جوجرا Jugra	u
		مونتانا إم إل Montana ML	u	نارانجال Naranjal	u
		سوكالاك Sokuluk	u	روكيو Rocio	u
		خفاش تامانا Tamana bat	u	سيبيك Sepik	u
				وزيلبورن Wesselborn	u
				الحمى الصفراء Yellow Fever	u
المجموع ١٤		١٩			٣٦
المجموع الكلي					٦٩

٢ - الوزن الجزيئي: ١,٥-٢,٢×١٠^٦ دالتون.

٣ - الشكل: مكعبية إيكوزاهيدرالية التماثل.

٤ - غير مغلفة.

٥ - حجم الدقيقة: ١٨ - ٢٦ نانومترًا.

٦ - موضع التكاثر: في النواة.

٧ - تقسيمها على حسب نظام بالتيمور: قسم٢، إذ يصنع من على المورث ح ن د المفرد الخيط الموجب (+) خيط ح ن د آخر سالب (-)، ومن على الخيط يصنع + ح ن ر مرسال (+ mRNA).

٨ - الأجناس:

(أ) الجنس المرتبط بفيروس أدنو Adeno associated virus، ومنه أنواع عائلها الإنسان Human adeno associated viruses، وهي أربعة أنواع مصلية 4 - Serotypes . كذلك توجد أنواع منها مرتبطة بفيروس الأدنو، وتوجد في الماشية والكلاب والدواجن. ويعد هذا الجنس غير مسبب لأي مرض، ولكنه يعتمد على وجود فيروس آخر يسمى فيروسًا مساعدًا Helper virus، إذ لا يتكاثر الفيروس المذنب Satelite (أو المرتبط Associated) إلا إذا كان في وجود الفيروس الآخر المساعد.

(ب) جنس بارفو Parvovirus: فيروس الجرزان (كيلهام) Rat virus (Kilham) والفيروسات المحللة لعظام الهامستر Hamster osteolylytic viruses: وهي فيروسات كامنة Latent عزلت من عوائل مختلفة منها سرطانات الإنسان. بعضها لا يسبب السرطان Non-oncogenic، ولا يحدث تحولاً Transformation لمزرعة الخلايا. كذلك يضم فيروس مرض الابيضاض في المنك Aleutian mink disease virus، وهو يصيب المنك ولا يصيب الإنسان، ويسبب مرضًا بطيئًا Slow disease ويتميز بإحداث زيادة في الأجسام المضادة Hypergammaglobulinemia، والانقسام السرطاني في خلايا بلازما المناعية

Glomerulonephritis والتهاب مصافي الكُلى Proliferation of plasma cells والتهاب الكبد Hepatitis ، وهو قاتل تمامًا. ويحدث المرض تحت ظروف تنشيط الاستجابة المناعية Immune response ، إذ إنه لا يسبب ذلك Excerbated عند حقن الفيروس مثبطًا Inactivated أو عند إعطاء أجسام مضادة Passive antibody. وبالرغم من أن هذا الفيروس يحدث مرضًا بطيئًا Slow ، إلا أنه يتكاثر بسرعة في الخلايا المزروعة كأي فيروس يسبب مرضًا حادًا Acute.

(جـ) جنس فيروس دنسو Denso virus مثل فيروسات دنسو النووية في الحشرات Densonucleosis viruses of insects.

(د) فيروسات محتملة مثل فيروس مصاحب أو مسبب لمرض الروماتزم Rheumotoid ، والتهاب مفاصل العظام Arthtitis.

(و) فيروس ب - ١٩ (B - 19 virus)، وهو من فيروسات بارفو البشرية. وقد وصفه لأول مرة كوسيرت وزملاؤه .Cossert et al عام ١٩٧٥م من دم متبرع بدون أعراض. ويسبب مرضًا في الإنسان يعرف بالحمرة المعدية Erythema infectiosum ، أو ما يسمى مرض حمى الطفولة الخامس Fifth disease ، ويسمى ، أيضًا ، الخد المصفوع ، وهو متلازمة مرضية يصاحبها حمى وصداع وتوعك وطلح على الوجه والأطراف مما يسهل التباسه مع الحصبة الألمانية Rubella. ويتسبب في توقف مؤقت لتكوين خلايا الدم بنخاع العظام واستسقاءللجنين Hydrops fetalis إذا أصيبت به الأم مما يسبب موت الجنين.

(١٧,٢,٢,٢) عائلة أدنو Adenoviridae:

١ - الحامض النووي: ح ن د مزدوج الخيط d.s-DNA جزيء واحد.

٢ - الوزن الجزيئي: ٢٠ - ٣٠ × ١٠^{٦} دالتون.

٣ - الشكل: مكعبية إكيوزاهيدرالية يخرج من على الأركان اثنتا عشرة ليفة Fibre تنتهي بانتفاخ.

٤ - غير مغلفة.

٥ - حجـم الدقيقـة ٧٠ - ٩٠ نانومـترًا. ويتكـون الغطـاء مـن ٢٥٢ كابسـوميرة، ٢٤٠ سداسيات Hexons على الأوجه Facets و١٢ وخماسيات على الأركان Vertices.

٦ - موضع التكاثر: في النواة.

٧ - تقسيمها على حسب نظام بالتيمور: قسم ١ الذي ينسخ من على الخيط السلبي لخيطي المورث (-) جزيء ح ن ر مرسال mRNA.

٨ - الأجناس:

(أ) جنس ماستا أدنو Mastadeno virus.

- منه مايصيب الإنسان، إذ يوجد منه ٣١ نوعًا مصليًا تصيب الجهاز التنفسي، منها الأنواع ٢، ٧، ١٤، ٢١، ويصيب ملتحمة العين Conjunctiva نوع ٨، أما الأنواع ١، ٢، ٥، ٦، فتسبب إلتهابات حادة حمية في البلعوم Acute febrile pharyngitis، في الأطفال والفتيان.
- فيه ما يصيب القرود (٢٣ نوعًا مصليًا)، وما يصيب القطط والكلاب (مثل الالتهاب الكبدي للنابيَّات Infectious canine hepatitis).

(ب) جنس أدنو الطيور Aviadeno virus منه أدنو الطيور الذي يصيب الدجاج والبط والدجاج الرومي والإوز وغيرها من الطيور.

٩ - بعض الأنواع المصلية مولدة للسرطان Oncogenic في الحيوانات التجريبية، ويمكن أن تحول Transform الخلايا في المعمل.

(١٧,٢,٢,٣) عائلة بابوفا Papovaviridae:

وقد اشتق اسم العائلة من اختصارات لثلاثة فيروسات تضمها العائلة هي Pa من فيروس السرطان الحلمي Papilloma الذي يصيب الإنسان و Po، وتعني فيروس متعددالسرطان Polyoma و Va، وتعني فيروس التجاويف Vacuolating agents (مثل SV- 40).

١ - الحامض النووي: ح ن د مزدوج الخيط d.s DNA، دائري Circular متضاعف التضفير Super coiled - جزيء واحد.

٢ - الوزن الجزيئي: ١,٥ - ٢ × ١٠^٦، محتوٍ س + ج ٤١ - ٥٣٪.

٣ - الشكل: مكعبية إيكوزاهيدرالية والكابسوميرات موروية الترتيب Capsomers are of skew arrangement.

٤ - غير مغلفة.

٥ - حجم الدقيقة: ٥٠ - ٦٠ نانومترًا.

٦ - موضع التكاثر: النواة.

٧ - مميزات خاصة: كلها تلزن كريات الدم الحمراء Haemagglutinate وكلها، ماعدا فيروس K، ذات قدرة سرطانية Oncongenic وكلها تنتج إصابات كامنة Latent ومزمنة Chronic في عوائلها الطبيعية.

٨ - تقسيمها على حسب نظام بالتيمور: قسم -١ مثل عائلة أدنو، والذي ينسخ من على الخيط السالب لخيطي المورث (-) جزئي ح ن ر مرسال mRNA.

٩ - الأجناس:

(ا) جنس فيروس بابيللوما Papilloma virus "فيروس السرطان الحلمي" ويسمى التثألل، أو السنطة، أو نفرة الحمار في الإنسان Human papilloma. ويضم خمسة أنواع، ويسبب سرطانًا حميدًا Benign في الإنسان. فيروس تثألل شوب في الأرانب Shope rabbit Papilloma virus وأنواع أخرى تصيب الماشية والخيل والغزلان والأغنام والنابيات والأيائل Elk والقرود والأفيال.

(ب) جنس فيروس بوليوما Polyoma virus "فيروس السرطان المتعدد"، ويضم فيروس بوليوما Polyoma virus الذي يصيب الفئران، وفيروس القرود المسبب للتجاويف رقم ٤٠ (Simian vacuolating agent (SV40، ويصيب كُلى القرود. وفيروس كُلى الأرانب المسبب للتجاويف Rabbit kindney vacuolating agent (RKV)، وفيروس - ك K- virus ويصيب الفئران،

وفيروس ب ك BK virus، ويصيب الإنسان، وقد تم عزله من البول في المرضى الذين زرعت لهم كلى Renal transplant، والمورث ح ن د يضم ٢٠ -٣٠ تماثلاً Homologous مع ح ن د لفيروس SV-40 والفيروس لا يسبب سرطانًا ولكنه يحول Transform الخلايا المزروعة. وفيروس دار DAR Virus : يصيب الإنسان، وقد تم عزله من أمخاخ المرضى بالمخ الليمفي متعدد المواضع المتقدم Progressive multi focal leukoencelphalopathy (PML).

ومن الجدير بالذكر أن تماثل ح ن د لهذا الفيروس يقدر بفوق ٩٠٪ مقارنة مع ح ن د لفيروس SV-40. أما فيروس جيه سي JC virus الذي يصيب الإنسان، فقد تم عزله من أمخاخ مرضى بالمرض المخي الليمفي متعدد المواضع المتقدم PML ويحتوي ح ن د الخاص به على نحو ١٠ - ٢٠٪ تناظرا مع ح ن د لفيروس SV-40 (وهذا الفيروس عالي التسرطن في الهامستر).

(١٧,٢,٢,٤) عائلة القوباء Herpesviridae:

١ - الحامض النووي: ح ن د مزدوج الخيط d.s-DNA جزيء واحد.

٢ - الوزن الجزيئي: ٥٤ - ٩٢ × $١٠^{٦}$ دالتون.

٣ - الشكل: مكعبية إيكوزاهيدرالية التماثل.

٤ - مغلفة: يخرج من طبقتي الدهون أشواك Spikes.

٥ - التركيب الدقيق: يلي الغلاف شغاف Tegument، ثم غطاء Capsid، ويوجد بالداخل ح ن د ملتفًا حول محور مركزي Central core، ويحتوي الفيروس على إنزيمات منها إنزيم ثايميدين كاينيز.

٦ - موضع التكاثر: النواة، ويكون داخل النواة نوع (أ) من الأجسام المحتواة Type (A)inclusion bodies، إذ يتكون جسم محتوى واحد كبير حامضي Acidophilic يكون محاطًا بهالة Halo لا تصطبغ، تفصله عن الكروماتين الحافي القاعدي Basophilic marginated.

٧ - حجم الدقيقة الكاملة من ١٨٠ - ٢٥٠ نانومترًا. أما حجم الغطاء النووي (النيوكليوكاسيد Nucleocapsid) فهو ١٠٠ نانومتر، لذا نلاحظ أن الغلاف يكون واسعًا.

٨ - تقسيمها على حسب نظام بالتيمور: قسم -١ مثل عائلة أدنو، وعائلة بابوفا، والذي ينسخ من على الخيط السالب لخيطي المورث (-) جزيء ح ن ر رسول + mRNA.

٩ - الأجناس:

(ا) جنس فيروس ألفا هيربيس Alpha herpes virus، وفيروساته ذات مدى عوائل متعددة (من واسع جدًا إلى ضيق جدًا)، وأغلبها، وليس كلها، ذات دورة تكاثرية قصيرة نسبيًا. وأغلبها، وليس كلها، ذات تأثير خلوي مرضي Cytopathic effect عال في الخلايا المزروعة. وغالبًا ما تسبب إصابات كامنة Latent infections في العقد العصبية الحسية Sensory ganglia، الوزن الجزيئي ح ن د ١٠٠ × ١٠^{٦} دالتون.

(ب) جنس بيتا هيربيس Beta herpes virus وفيروساته ذات مدى عوائل ضيق ودورات تكاثر طويلة نسبيًا ، وأقل إمراضًا للخلايا، ويؤسس، غالبًا، إصابات كامنة في الغدة اللعابية والأنسجة الأخرى والوزن الجزيئي لـ ح ن د هو ١٥٠ × ١٠^{٦} دالتون.

(جـ) جنس جاما هيربيس Gamma herpes virus، ويتميز بمدى عوائل ضيق، وميل Predilection لإصابة الخلايا الليمفاوية التي يحدث فيها تحول Transformation (أي تسبب أورامًا Tumours)، والوزن الجزيئي لـ ح ن د ١٠٠ × ١٠^{٦} دالتون. وقليل من فيروسات هيربيس تربطها علاقات قرابة وثيقة كما بين ذلك تهجين ح ن د - ح ن د DNA-DNA hybridization، ولكن معظمها أبدى بعض القرابة Relatedness (تعطي تهجين عبور نحو

٢-١٠٪). وكل فيروسات عائلة القوباء تحتوي على محددات أنتيجينية Antigenic determinants عامة.

أولاً: فيروسات جنس فيروسات ألفا Alpha viruses:

١ - القوباء البسيطة نوع- ١(Herpes simplex - type -1)، يصيب الإنسان، ويسبب التهابًا في الفم Stomatitis، وإصابات في الجهاز التنفسي العلوي، ومرضًا جهازيًا عامًا والتهابًا مخيا Encephalitis حادًا ومميتًا Fatal.

٢ - القوباء البسيطة نوع -٢ (Herpes simplex -2)، وتحدث إصابات للإنسان في الأعضاء التناسلية Genital infections (القوباء الجنسية).

٣ - الجدري الكاذب = الجديري المائي = العنقز (فاريسيللا - زوستر) - Varicella Zoster (Herpes). واسم الفيروس فاريسيللا - زوستر ولكنه يسبب نوعين من المرض. أولهما الجدري الكاذب Chickenpox، ويسببه فارسيللا. أما القوباء النطاقية Zoster فيسببها الفيروس فارسيللا نفسه؛ نتيجة لإصابة كامنة حدث لها معاودة تنشيط Reactivation.

٤ - فيروس ب B virus، يصيب القرود والإنسان، ويسبب في الإنسان التهابًا مخيًا قاتلاً Enecphalitis.

٥ - فيروس إجهاض الخيل (Equine abortion virus (EAV).

٦ - فيروس إل كيه في الخيل LK virus.

٧ - فيروس الطفح الجلدي في الخيل Coital exanthema virus وهو نوع -٣- (EHV -3)، كما ينتقل، أيضًا، جنسيًا.

٨ - فيروس السعار الكاذب في الخنازير Pseudorabies virus.

٩ - فيروس الرشح وإلتهاب القصيبات المعدي في الأبقار (IBR) Infectious bovine rhinotracheititis virus.

١٠ - فيروس إلتهاب القرنية والملتحمة المعدي في الأبقار Infectious bovine Keratoconjunctivitis virus (IBK).

١١- فيروس الرشح وإلتهاب القصيبات في القطط. Feline rhinotracheititis virus.

١٢- فيروس الرشح وإلتهاب الحنجرة والقصيبات المعدي في الدواجن Infectious laryngotracheititis virus (ILTV).

ثانيًا: فيروسات جنس بيتا هيربيس Beta herpes viruses:

١- فيروس مضخم الخلايا في الإنسان Human cytomegalo virus، ويصيب الإنسان بالصفراء Jaundice، وتضخم الكبد والطحال Hepatospleenomegaly ومرض المخ Encephalopathy.

٢- ويوجد من فيروسات مضخم الخلايا أنواع أخرى تصيب القرود والقوارض Rodents والخنازير.

ثالثًا: فيروسات جنس جاما هيربيس Gamma herpes viruses:

وهذه الفيروسات إما أنها تسبب سرطانات، وإما أنها مشتبهة Suspected في أنها تحدث سرطانات.

١- فيروس إبشتاين - بار Epstein-Barr virus.

* ويصيب الإنسان فيسبب فيه ورم ليمفوما بيركيت Burkitt's-lymphoma، ويظهر في الأفريقيين السود.

** أو يسبب سرطان الأنف والحنجرة Nasopharyngeal carcinoma، ويظهر في أبناء جنوب شرقي آسيا والصينيين.

*** أو يسبب مرض خلايا وحيدة النواة المعديInfectious mononucleosis.

٢- فيروس مرض ماريك Marek's disease virus، ويصيب الدواجن خاصة الدجاج الرومي Turkey.

٣- فيروس القوباء سيميري Herpes virus saimiri، ويصيب القرد السنجابي Squirrel monkey.

٤- فيروس القوباء أتيليس Herpes virus ateles، ويصيب القرد العنكبوتي Spider monkey.

٥ - فيروس قوباء سيلفيلاجاس Herpes virus sylvilagus ، ويصيب الأرانب.
٦ - فيروس قوباء خنازير غينيا Guinea pig herpes virus ، ويصيب خنازير غينيا (الأرانب والوبر).
٧ - فيروس ورم لوكيه Lucke tumour virus ، ويصيب الضفادع Frogs.

رابعًا: الفيروسات القوبائية البشرية Humman herpes viruses:

وقد إكتشف حديثًا فيروسان قوبائيان جديدان يصيبان الإنسان. وبذا، أصبح عدد الفيروسات القوبائية البشرية ٧، هي كما يلي:
١ - فيروس القوباء البسيط نوع -١ (Herpes simplex virus type -1).
٢ - فيروس القوباء البسيط نوع -٢ (Herpes simplex virus type -2).
٣ - فيروس فاريسيللا - زوستر (Varicella - zoster virus) .
٤ - فيروس مضخم الخلايا (Cytomegalo virus).
٥ - فيروس إبشتاين وبار (Epstein - Barr virus) .
٦ - فيروس القوباء البشري رقم ٦ (Human herpes virus 6).
٧ - فيروس القوباء البشري رقم ٧ (Human herpes virus 7).

خامسًا: عائلة إريدو: Iridoviridae:

١ - الحامض النووي: ح ن د مزدوج الخيط d.sDNA، المورث جزيء واحد.
٢ - الوزن الجزيئي: ١٣٠ - ١٦٠ × ١٠ $^{-٦}$ دالتون.
٣ - الشكل: مكعبية إيكوزاهيدرالية التماثل.
٤ - غير مغلفة: (فيما عدا الفيروسات التي تصيب الثدييات).
٥ - حجم الدقيقة ١٣٠ - ٣٠٠ نانومتر (بعضها كبير نسبيًا).
٦ - التركيب الدقيق: يتكون الغطاء (الكابسيد) من عدة صدفات Shells، كما تحتوي على بعض الإنزيمات.

٧ - موضع التكاثر: السيتوبلازم. الفيروس لا يسبب تلزنًا دمويًا، ولكنه يحدث ادمصاصًا دمويًا.

٨ - تقسيمها على حسب نظام بالتيمور: قسم ١ الذي ينسخ من على الخيط السالب لخيطي المورث (-) جزيء ح ن ر مرسال mRNA +.

٩ - محتوى ج + س = ٤١٪.

١٠ - الأجناس:

(أ) فيروس حمى الخنزير الإفريقي African swine fever virus ويصيب الخنازير.

(ب) فيروس الضفادع ٢ (Frog virus -2)ويصيب البرمائيات Amphibia.

(جـ) فيروس الضفادع ٣ (Frog virus -3)ويصيب البرمائيات.

(د) فيروس مرض التكيس الليمفاوي في الأسماك Fish (FLDV) lymphocystosis disease virus.

(هـ) فيروسات تيبولا إريديسنت Tipula Iridescent viruses، وتصيب الحشرات.

(و) فيروسات إيرديسنت في الأوليات protozoa والرخويات Molluscus.

سادسًا: عائلة الجدري Poxviridae:

١ - الحامض النووي: ح ن د مزدوج الخيط d.s DNA والمورث من جزيء واحد.

٢ - الوزن الجزيئي: ١٣٠ - ٢٤٠ × ١٠^٦ دالتون، شكل الدقيقة المعقدة يشبه قالب الطوب Brick-shaped.

٣ - الحجم والشكل: وطولها ٢٦٠ - ٤٦٠، وعرضها ٢٢٥ نانومترًا في كل الأجناس عدا جنس بارابوكس Parapox ؛ إذ يوجد على سطحها نظام خيطي سواري Whorled ، الجنس الأخير: حجم الدقائق فيه ١٥٠ × ٢٠٠ نانومتر وشكل الدقيقة المعقد بيضي Ovoid ، وعلى سطحها نظام خيطي منتظم.

٤ - مغلفة : والغلاف معقد من الفوسفوليبيد والجليكوبروتين. تتكون على سطحه الخارجي أنيبيبات Tubules من تحت وحدات تعطي عند ترصصها مرتفعات Ridges تنحصر بينها أخاديد Furrows والأنيبيبات تتقاطع Criss-crossed في نظام محدد.

٥ - موضع التكاثر : السيتوبلازم.

٦ - مميزات بارزة :

(ا) أكبر الفيروسات حجمًا وتعقيدًا.

(ب) يمكن رؤيتها داخل السيتوبلازم بالمجهر الضوئي.

(جـ) تحجز فوق المرشحات العالية أحيانًا.

(د) تحتوي على العديد من البروتينات والإنزيمات ، وتحتوي على إنزيم النسخ Transcriptase.

٧ - تقسيمها على حسب نظام بالتيمور : قسم ١ مثل عائلات هيربيس ، ويابوفا ، وأدنو ، وإريدو ، والذي ينسخ من على الخيط السالب لخيطي المورث (-) جزيء ح ن ر رسول mRNA +.

٨ - تحت العائلات والأجناس : تحت عائلة الفيروسات :Subfamily Chordopoxvirinae. التي تصيب الفقاريات.

(أ) جنس أورثوبكس Orthopox virus ، ويضم الأنواع التالية :

١ - فاريولا ميجور *Variola major* ، ويسبب الجدري Alastrim في الإنسان.

٢ - فاريولا ماينور *Variola minor* ويسبب الجدري البسيط Alastrim في الإنسان.

٣ - جدري القرود Monkey pox ، ويصيب القرود والإنسان ، ويسبب ما يشبه جدري الإنسان.

٤ - فاكسينيا *Vaccina*، ويسبب الجدري في البقر. ومنه عمل لقاح الجدري للبشر.

٥ - جدري البقر Cowpox، ويصيب الماشية والإنسان، وفي الإنسان، يعطي طفحًا مثانيًا Vesicular eruption على الجلد.

٦ - جدري الجاموس Buffalopox.

٧ - جدري الأرانب Rabbitpox.

٨ - جدري الفئران Ectromelia (mouse pox).

(ب) جنس فيروس جدري ليبوري Leporipox virus.

١ - ميكسوما Myxoma، وفايبروما Fibroma، ويصيبان الأرانب.

(جـ) جنس جدري كابري Capripox virus ومنه ما يصيب الغنم Sheeppox virus وما يصيب الماعز Goatpox virus، وفيروس الجلد المتكتل Lumpy skin disease virus، الذي ينتشر في السودان وكينيا وبعض بلاد الشرق الأوسط، ويصيب الأبقار والجاموس.

(د) جنس جدري الطيور Avipox virus، ويصيب الطيور Avians، وجدري الدجاج Fowlpox، وجدري الطيور الأخرى Birdpox viruses.

(هـ) جنس جدري الخنازير Suipox virus، وفيروس جدري الخنازير Swinepox.

(و) جنس جدري بارا Parapox virus، فيروس أورف Orf كما يسمى، أيضًا، فيروس التهاب الجلد البثري المعدي Contageous pustular dermatitis، وهو يصيب الغنم، والماعز والإنسان. وفيروس جدري البقر الكاذب Pseudo cowpox، أو عقد حالبي الأبقار Milker's nodules، وهو يصيب أصلاً الأبقار. وفيروس التهاب الفم البثري في الأبقار Bovine papular stomatitis.

ومن الفيروسات غير المصنفة: الفيروس الرخوي المعدي Molluscum contagiosum، ويسبب أورامًا جلدية حميدة Benign في الإنسان، وفيروس أورام قرود

يابا Yaba monkey tumour virus، ويسبب أورامًا تحت جلدية حميدة في القرود والإنسان.

أما تحت العائلة الثانية فهي تحت عائلة جدري الحشرات Entomopoxvirinae وتضم سلالات عديدة تصيب العديد من المفصليات Arthropods.

سابعًا: عائلة الالتهاب الكبدي الفيروسي ح ن د (هيبادنا) Hepadnaviridae:

تتميز هذه العائلة بأنها العائلة الوحيدة من فيروسات ح ن د DNA viruses التي تضم فيروسات تسبب، صراحة، إلتهابات كبدية، على حين أن العديد من الفيروسات الكبدية الأخرى التي تحتوي على ح ن ر RNA تنتشر في عدة عائلات ذات ح ن ر.

خصائص العائلة:

١ - اشتق اسم العائلة من الميل للكبد، ومن أنها تحتوي على مورث من ح ن د (DNA) - تضم ٥ فيروسات هيبادنا عزلت من أنواع حيوانية مختلفة: هي الإنسان: Hepatitis B Virus (HBV)، والمرموط Woodchuck Hepatitis Virus (WHV)، والسنجاب الأرضي Ground Squirrell Hepatitis Virus (GSHV)، وسنجاب الأشجار Tree Squirrel Hepatitis Virus (TSHBV)، والبط (DHC) Duck Hepatitis Virus.

٢ - الشكل الظاهري: وجدت ثلاثة أشكال للدقائق الفيروسية في مصل المرضى، لذا، كان يسمى الالتهاب الكبدي المصلي Serum hepatitis، كما كان يسمى، أيضًا، أنتيجين أستراليا Australia antigen والدقائق الثلاث هي:

(أ) دقائق صغيرة كروية متباينة الحجم والمظهر، يتراوح قطرها مابين ١٦ - ٢٥ نانومترًا، وفي الغالب، يكون قطرها ٢٢ نانومترًا، لذا فهي تعرف بالدقائق الكروية التي قطرها ٢٢ نانومترًا (Small spherical 22 nm-particles).

(ب) الدقائق الخيطية أو عصوية الشكل Filamentous or rod-shaped particles، وقطرها ٢٢ نانومترًا، تقريبًا، ولكنها تصل إلى بضع مئات من النانومترات في الطول، كما قد يظهر على طرفها أو طرفيها انتفاخات بصلية أو مستديرة.

(جـ) دقائق دين Dane's particles، وهي دقائق كروية أكبر، قطرها ٤٢ نانومترًا، ويوجد بها محور Core قطره ٢٨ نانومترا وهو على شكل المحفظة النووية Nucleocapsid، ذو تماثل إيكوزاهيدرالي، ويحيط به غلاف يحتوي على دهون، وعمقه ٧ نانومترات. وتمثل دقائق دين الفيريون الكامل. وعند معاملة دقائق دين بمنظف غير أيوني، تتفكك إلى ما يسمى HBs Ag (الأنتيجين السطحي) ومحور داخلي، ويعني الأول الأنتيجين السطحي للالتهاب الكبدي - ب. أما المحور فيسمى HBc Ag أي أنتيجين المحور للالتهاب الكبدي - ب والذي يحتوي، أيضًا، على جزيء من ح ن د مزدوج الخيط دائري Circular d-s DNA، وعلى إنزيم بلمرة ح ن د DNA polymerase.

وعندما توجد الفيريونات في الدم، يمكن الكشف عن نوع ثالث من الأنتيجينات، وهو أنتيجين ذائب، وهو ما يسمى أنتيجين "إي" للالتهاب الكبدي - ب HBeAg، والذي يوجد، عادة، حرًا في مصل المرضى في الأطوار الأولى للإصابة وأيضًا، أثناء الالتهاب الكبدي المزمن النشيط Active chronic hepatitis، وتعد الأنتيجينات الثلاثة علامات للكشف عن فيروس الالتهاب الكبدي الوبائي ومراحل المرض.

٣ - يتكون المورث (المجين Genome) من جزيء دائري من ح ن د مزدوج الخيط، ويكون أحد خيطيه طويلاً، ويتكون من ٣٢٠٠ قاعدة نتروجينية، والخيط الثاني قصير يتراوح طوله مابين ١٧٠٠ - ٢٨٠٠ قاعدة نتروجينية لذا، فإن ح ن د المزدوج الدائري يحتوي على جزء مفرد الخيط يختلف في طوله من ١٥ - ٦٠٪ من الطول الكلي للدائرة.

٤ - يحتوي الفيريون على إنزيم بلمرة ح ن د DNA polymerase ، والذي يُصلِح المنطقة مفـردة الخيـط (ss) ، ويحولهـا إلى جـزيء مـزدوج الخيـط يتكـون في مجملـه مـن ٣٢٠٠ زوج من القواعـد النتروجينية. ويبـدأ تصنيـع ح ن د في الخيـط القصير من الطرف ٣َ ، ويستمر إلى أن ينتهي عند الطرف ٥َ .

٥ - أمكـن تنسـيل Cloned كـامل ح ن د لفـيروس HBV في البكتيريـا القولونيـة *E. coli* (باريل وزمـلاؤه Burrell et al., 1979) عـام ١٩٧٩م. وتـم عمـل تتـابـع نيوكليوتيدي Nucleotide sequence ، ووجد أن طوله ٣١٨٢ نيوكليوتيدة.

كما تم التعرف على ٤ إطارات للقراءة المفتوحـة (ORF) علـى كـل خيـط ، وتوجد ٤ جينات عظمى هي C,X,P,S. ويعطي جين S بروتينًا سكريًا Glycoprotein هـو المكون الرئيسي لبروتـين الغـلاف الـذي يحمـل محـددات الأنتيجـين السطحـي للالتهاب الكبدي - ب HBsAg. أما جين C ، فإنه يعطي بروتين المحور كما أنه يوجـد في المصل على شكل أنتيجين "إي". أما جين P ، فيعتقـد بأنـه يعطي إنزيـم البلمـرة ، على حين أن منتج جين X قد يربط الطرف ٥َ بالخيط السالب.

الفصل الثامن عشر

أمثلة لبعض الفيروسات التي تسبب أمراض للإنسان
Examples of Some Viruses Causing Human Diseases

(١٨,١) الفيروسات التي تنتقل عن طريق الجهاز التنفسي

توجد فيروسات كثيرة تنتقل عن طريق الجهاز التنفسي، أو تبدأ إصابتها أولاً في الجهاز التنفسي ولكننا سنقتصر في الشرح هنا على الأمراض الفيروسية التنفسية.

(١٨,١,١) فيروسات البرد العادي Common cold viruses

تعد متلازمة Syndrome البرد العادي من أكثر الأمراض انتشارًا على مستوى العالم، ويكتسب جميع البشر هذه الإصابات بكثرة، أكثر من غيرها من الأمراض الأخرى. وإنه لمن المألوف لأي فرد أن يعاني، عدة مرات من أمراض هذه الفيروسات سنويًا، وربما شهريًا. وبالرغم من أن البرد العادي ليس مرضًا خطيرًا من حيث الإمراضية والإماتة، إلا أن فيروساته تسبب متاعب صحية تؤثر على العمل والاقتصاد.

(١٨,١,١,١) فيروسات الرشيح (الزكام) Rhinoviruses

على الرغم من أنه كان يعتقد في بادىء الأمر بأن فيروسًا واحدًا هو الذي يسبب الإصابة التنفسية المعتدلة التي نطلق عيها البرد العادي أو، أحيانًا، الزكام والرشح Rhinitis، إلا أننا نفضل أن نطلق عليها البرد العادي. والمسبب الرئيسي لهذا المرض هو فيروسات الرشح التي يزيد عددها الآن عن ١٠٠ نوع. وهي تتبع جنس فيروس راينو

Rhinovirus الذي ينتمي إلى عائلة الفيروسات ح ن ر الصغيرة Picornaviridae ، وينتمي إلى قسم -٤ من تقسيم بالتيمور. والفيروسات غير مغلفة، وقطرها ٢٠ -٣٠ نانومترًا، إيكوزاهيدرالية من ح ن ر مفرد موجب المعنى، تتثبط عند أس هيدروجيني حامضي (على عكس الفيروسات المعوية، وغيرها من هذه العائلة) وتنمو جيدًا عند درجة حرارة ٣٣° م في مزرعة خلايا الجنين البشري. وقد تم التعرف على سلالات الفيروس العديدة بعد تنميتها على المزارع النسيجية، وبعد معادلة الإصابة Neutralization بالأمصال المضادة Antisera. ولأن كل سلالة متميزة مناعيًا، فإن الفرد يمكن أن يصاب عدة مرات في فترة زمنية وجيزة، ربما خلال أيام أو بعد شهر. ويبدو أن الإنسان هو العائل الوحيد لفيروسات الرشح، على الرغم من أن بعض السلالات يمكن أن تنمو في القرود.

وعندما استخدم كريستوفر أندروز (في مؤسسة أبحاث البرد العادي بإنجلترا) متطوعين من البشر اختارهم من الأزواج حديثي الزواج وأعطاهم بيوتًا ريفية معزولة لقضاء شهر العسل، في مقابل استخدامهم حيوانات تجارب للبرد العادي، إتضح أن التعرض للجو البارد، وحده، لا يسبب مرضًا. ولكن سكن الناس في أماكن سيئة التهوية هو السبب. كما بينت، أيضًا، أن المناعة ضد الإصابة بفيروسات الرشح تكون نوعية، ومن المحتمل أن تظل فعالة ضد نفس النوع، فقط، لمدة عامين. وترتبط هذه المناعة جيدًا عند توافر IgA في الإفرازات المخاطية للأنف، أكثر مما يكون متوافرًا في المصل. وبعد الشفاء من إصابة بفيروس الرشح، فإن الفرد يكون، عادة، مقاومًا لمعاودة الإصابة Reinfection، بأي فيروس من فيروسات الرشح الأخرى لنحو شهر. ويعتقد بأن هذه المقاومة غير النوعية إنما تكون نتيجة لإنتاج الإنترفيرون Interferon، ولكن لا يرجع هذا لأن الإنترفيرون لا يبقى فعالا أكثر من بضعة أيام. وبسبب وجودأكثر من ١٠٠ سلالة من فيروسات الرشح، فإنه يصعب إنتاج لقاح فعال. وقد بينت الدراسات على أن الفيروس ينتشر بوساطة الرذاذ، ولكن أكثر الطرق فعالية من خلال ملامسة الأيدي، أو تصافحها، ثم حقن الفيروس في الأغشية المخاطية للعين أو

مخاطيات الأنف. وقد بينت الدراسات الحديثة أن استخدام المناديل الورقية المبيدة للفيروسات Virucidal ذات فعالية عالية في منع إنتشار الفيروس من شخص لآخر.

ويصعب التشخيص المعملي للبرد العادي، ومع ذلك، فإن تشخيص أي فيروس للرشح يتطلب تنمية الفيروس وعزله وتعريفه، وهو ما لا يحدث إلا في معامل الأبحاث.

(١٨,١,١,٢) فيروسات شبيهة الإنفلونزا (بارا إنفلونزا) Parainfluenza viruses

تسبب الفيروسات شبيهة الإنفلونزا مرض البرد العادي علاوة على أنها تسبب الخناق Croup وإصابات القناة التنفسية السفلى في الأطفال، أي أنها تسبب مدى واسعًا من الأمراض التنفسية، من التي تهدد الحياة إلى الخفيفة التي تشفى بذاتها.

وتنتمي هذه الفيروسات إلى عائلة شبه المخاطية Paramyxoviridae من جنس باراميكسو Paramyxo، والذي يضم أربعة أنواع. ويسبب نوعا ١ و ٢ الخناق، بينما يسبب نوع ٣ إلتهاب الشعيبات الهوائية، مقارنة بجميع الأنواع (١ - ٤) التي تسبب إصابات في القناة التنفسية العليا. وللفيروس مورث من ح ن ر s.s - RNA genome مفرد الخيط سالب المعنى ينتمي إلى قسم ٥ من تقسيم بالتيمور. والدقائق الفيروسية مغلفة كبيرة الحجم، قطرها ١٠٠ - ٢٠٠ نانومتر مع تماثل حلزوني. وتخرج من غلاف الفيروس شوكة واحدة لها القدرة على نشاط إنزيم نيورامينيديز، وتلزن خلايا الدم الحمراء (مجموعة "O" من الدم البشري)، وتنمو في المزارع النسيجية لكُلى القرود، مع خاصية الادمصاص الدموي Haemadsorption.

وتحدث أمراض بارا إنفلونزا بكثرة، خاصة في الشتاء، ولكن معاودة الإصابة تكون، أيضًا، شائعة، على الرغم من أنها غالبًا ما تكون تحت سريرية Subclinical، أي غير ظاهرة. وتعمل هذه الإصابات تحت السريرية كخزان ضخم يحافظ على الفيروس وعلى مقدرته المستمرة المتجددة في إحداث الإصابة. وفي دراسة فريدة تمت في القاعدة القطبية بالقطب الجنوبي، تم عزل فيروسات بارا إنفلونزا باستمرار، على الرغم من أن الأشخاص كانوا مقطوعين تمامًا عن العالم لعدة أشهر خلال الشتاء.

وتنتقل الفيروسات بالقطيرات المنقولة بالهواء Aerosol، وتنتشر بصورة أسرع بين الأطفال، خاصة في المؤسسات. وتسبب فيروسات بارا إنفلونزا نحو ثلث كل إصابات القناة التنفسية، ونحو نصف الإصابات التنفسية في أطفال ما قبل المدرسة.

ويحدث نوعا ١، ٢ أغلب الحالات المرتبطة بالتهاب الحنجرة والقصبة والشعب الهوائية Laryngotracheobronchitis (الخناق Croup)، والذي يؤثر على الفتيان أكثر من الفتيات، على حين يسبب نوع ٣ إصابة الجهاز التنفسي السفلي، أي يؤدي لالتهاب القصيبات Bronchiolitis، وللالتهاب الرئوي Pneumonia.

وتسبب فيروسات بارا إنفلونزا مرضًا في البالغين، لكنه يكون معتدلا جدًّا وقاصرًا على القناة التنفسية العليا، وهذا ما يشخص بأنه البرد العادي.

ويحتاج التعرف القاطع في تشخيص الإصابة بفيروسات بارا إنفلونزا إلى عزل الفيروس وتنميته. ويمكن أن ينمى الفيروس في المزارع الخلوية لكُلى القرود، أو لكُلى جنين الإنسان، إذ يتم التعرف عليها بقدرة الخلايا النسيجية المصابة على أن تدمص خلايا الدم الحمراء لخنازير غينيا (أي ادمصاص دموي Haemadsorption). ولا يمنح اللقاح المثبط بالفورمالين حماية. كما أن اللقاحات المضعفة لازالت الآن في مجال التطوير على أمل أنها ستستحث تصنيع الجسم المضاد من النوع - أ (IgA).

(١٨,١,١,٣) فيروس الدمج الخلوي التنفسي Respiratory syncytial virus (RSV):

إن ثالث نوع من الفيروسات المرتبطة بمتلازمة البرد العادي هو فيروس الدمج الخلوي التنفسي (RSV). وهو يتبع جنس نيمو Pneumovirus من العائلة شبه المخاطية Paramyoviridae. ويختلف عن معظم فيروسات هذه العائلة من حيث إنه لا يمتلك القدرة على التلزن الدموي، وقد تم التعرف على الفيروس لأول مرة عام ١٩٥٦م. ومعروف - الآن - بأنه أهم مسبب للإصابات الخطيرة في القناة التنفسية السفلى للأطفال. إذ قدر أن فيروس الدمج الخلوي التنفسي هو المسئول عن نصف حالات التهاب الشعيبات الهوائية Bronchiolitis، وربع حالات الالتهاب الرئوي Pneumonia

في الستة الأشهر الأولى من حياة الأطفال. ويسبب المرض نحو ٢٠٪ من وفيات الأطفال حديثي الولادة، كما تأكد من وباء حدث في إيطاليا عام ١٩٧٩م.

أما في الكبار، فإن الفيروس يحدث إصابات في القناة التنفسية العليا، فقط، والتي تشخص على أنها برد عادي. وحيث إن الأطفال أكثر استعدادًا للإصابة بفيروس الدمج الخلوي التنفسي، وأن الفيروس سريع الانتقال وبشدة، لذا، فإنه يسبب وباء في كل شتاء في الأطفال. وللأسف الشديد، لا تعطي الأجسام المضادة IgA من الأم حماية، لأن هذا النوع من الجلوبيولين المناعي لا يعبر المشيمة.

(١٨,١,١,٤) فيروسات ريو Reoviruses:

تعد فيروسات ريو (R = تنفس Respiratory، E = معوي Enteric، O = الأطفال اليتامى Orphans) ثالث مجموعة تسبب متلازمة البرد العادي. وتتبع هذه الفيروسات عائلة ريو Reoviridae. وهي فيروسات غير مغلفة، إيكوزاهيدرالية يتكون الغطاء فيها من صدفتين: واحدة خارجية والأخرى داخلية، وقطر الفيروس ٨٠ نانومترًا. المورث فيها من ١٠ قطع من ح ن ر مزدوج الخيط، وتحتوي على إنزيم النسخ الخاص بها وتتبع قسم -٣ من تقسيم بالتيمور. ويمكن تنمية هذه الفيروسات في المزارع الخلوية. وهي ٣ أنواع مصلية تتبع جنس أورثو (Orthoreovirus). ويمكن التعرف عليها بالطرق المصلية (التعادل Neutralization، وتثبيت العامل المتمم (المكمل Complement fixation) باستخدام أمصال معروفة).

ويسبب قلة المعرفة عن الأمراض التنفسية التي تسببها فيروسات ريو، فإن الأمر يتطلب مزيدًا من الدراسة. وقد بينت الدراسات أن أغلبية صغار البالغين تمتلك أجساما مضادة ضد فيروسات ريو، مما يوحي بأنها واسعة الانتشار.

(١٨,١,١,٥) الفيروسات التاجية Coronaviruses:

تتبع الفيروسات التاجية العائلة التاجية Coronaviridae، لأنه يخرج على سطح الدقائق الفيروسية زوائد تشبه بتلات الأزهار، مما يجعلها تماثل تاج قرص الشمس.

والفيروسات متوسطة الحجم (٨٠ - ١٠٠ نانومتر) من ح ن ر مفرد الخيط، موجبة المعنى تتبع قسم -٤ من تقسيم بالتيمور. والدقائق مغلفة، ويخرج من الغلاف زوائد صولجانية الشكل كالهداب Fringe. وهذه الفيروسات تحث تلزنا دمويا Haemagglutination. يمكن أن تعزل، فقط، في مزارع أعضاء من القصبة الهوائية لجنين الإنسان، على الرغم من أن بعض السلالات، خاصة 229E، قد تم تطبيعها على النمو في الخط الخلوي L 132 المستمد من خلايا رئة جنين الإنسان، إذ تعطي تأثيرًا مرضيًا خلويًا CPE. ويوجد من الفيروسات التاجية البشرية، على الأقل، ٣ أنواع أنتيجينية. وترتبط هذه الفيروسات البشرية، بكثرة، بإصابات القناة التنفسية العليا التي لايمكن تمييزها ظاهريا عن إصابات البرد العادي الناتجة عن فيروسات الرشح.

وتحدث إصابات الفيروسات التاجية، أساسًا، في الشتاء والربيع، ومما لاشك فيه أنها تنتشر عن طريق الإفرازات التنفسية. ومن المقدر بأن الفيروسات التاجية تسبب نحو ١٥٪ من أمراض البرد العادي. وقد أوضحت دراسة على متطوعين بأن فترة الحضانة هي ٣ أيام، وأن المرض يستمر نحو أسبوع. وتتضمن الأعراض حرقان الزور Sore throat علاوة على التأثيرات العادية التي ترتبط، عادة، بالإصابات الحادة للقناة التنفسية العليا. ولصعوبة عزل هذه الفيروسات في المعمل، فإنها تشخص بالأمصال، وحديثًا، فإن تقنية تفاعل سلسلة إنزيم البلمرة Polymerase Chain Reaction (PCR) تستخدم الآن للكشف عن الفيروس، ولكن على مستوى بحثي.

(١٨,١,٢) فيروسات الغدد (أدنو) Adenoviruses:

لقد تم عزل أول فيروس من فيروسات الغدد (أدنو) عام ١٩٥٣م من مزرعة خلوية تحتوي على خلايا عادية من الغدد. أعقب ذلك عزل ما يزيد على ٤١ نوعًا من فيروسات الغدد من الإنسان، والتي تسبب له أنواعًا مختلفة من الأعراض. وكل نوع من فيروسات الغدد له أجسام مضادة معادلة نوعية لا تعادل غيره من الأنواع، وهذه تستحث ببروتين نوعي واحد في الغطاء، وبروتين واحد للألياف. ومن غرائب الحقائق

أنه يمكن عزل هذه الفيروسات من كل من اللوز Tonsils السليمة والمصابة ومن الغديدات Adenoids ، وكذلك من الإفرازات التنفسية ومن إفرازات العين. وفي الحقيقة ، فإن أغلب الغدد المأخوذة بالجراحة سوف يخرج منها فيروسات الغدد عند تنميتها وزراعتها في مزارع نسيجية ، حتى وإن بدا أن هذه الغدد غير مصابة. ولاتزال آلية عملية الكمون "Latency" هذه غير مفهومة ، ولكن يقترح بعض العلماء بأن هذه الفيروسات ليست كامنة كمونًا حقيقيًا ، إذا أن ح ن د للفيروس ليس ملتحمًا مع ح ن د للعائل بطريقة مناظرة لما يحدث في كمون فيروس القوباء. وبدلا من ذلك ، يبدو أن هذه الفيروسات تتكاثر بمعدل بطيء جدًا أو غير متساو. وباستخدام الأنسجة المنزوعة جراحيًا ، اتضح أن ١ من ١٠ ملايين خلية تكون مصابة فعلا بفيروس أدنو.

وتتبع هذه الفيروسات عائلة أدنو Adenoviridae وفيها يكون الفيروس من ح ن د مزدوج الخيط d.s DNA ، ومتوسط حجم الدقيقة الفيروسية ٧٠ - ٩٠ نانومترًا غير مغلفة ، إيكوزاهيدرالية ، وذات تماثل مكعبي وألياف تخرج من الأركان الإثني عشر ، كل ليفة تنتهي بانتفاخ. وتنتمي هذه الفيروسات للقسم الأول من تقسيم بالتيمور. ومعظمها يلزن خلايا الدم الحمراء. وتنمو ببطء في المزارع النسيجية ، وأفضلها الخلايا الجنينية للإنسان وخلايا هيلا HeLa ، حيث تعطي تأثيرًا مرضيًا خلويًا CPE من خلايا مستديرة بالونية Ballooned وتتجمع في مثل عنقود العنب.

والأعراض الأساسية التي تسببها الإصابات التنفسية لفيروسات الغدد هي التهاب البلعوم Pharyngitis ، والتهاب ملتحمة العين Conjunctivitis ، ولكن المتلازمات تتنوع كما يلي :

١ - إصابة وبائية Epidemic : وتسبب حمى التهاب البلعوم والملتحمة Pharyngo-conjunctival fever ، ومرضًا تنفسيًا حادًا ، وتسببها أنواع أدنو ٤ ، ٧ ، ١٤ ، ٢١.

٢ - إصابات متوطنة Endmic : وتسبب التهاب البلعوم Pharyngitis ، والتهاب ملتحمة العين الحبيبية Follicular conjunctivitis ، وتسببها أنواع ١ ، ٢ ، ٥ ، ٦.

٣ - التـــهاب القرنيـــة والمتحمـــة الوبـــائي أو "عـــين صنـــاع الســـفن" Epidemic Kerato-conjunctivitis or "Shipyard eye"، وتسببها أنواع ٨، ١٩، ٣٧.

أمـا نوعـا أدنـو ٤٠ و ٤١، فإنـهما يسـببان التـهابًا للمعـدة والأمعـاء Gastroenteritis، وهي فيروسات صعبة لا تنمو في المزارع الخلوية العادية.

كما توجد متلازمات أخرى:

١ - القناة الهضمية: تسببها فيروسات أدنو التي توجد في البراز وتسبب التهابًا لغدد المساريقا Mesentric adenitis، وطيات المعي Intussusception في الأطفال.

٢ - إصابات زراعة نخاع العظام Bone marrow tansplantation.

٣ - التهاب المثانة الدموي الحاد Acute haemorrhagic cystitis، خاصة مع نوع ١١.

٤ - الإصابات المثابرة Persistent infections: يحدث ذلك لفترات طويلة في اللوز والغدد وإلى حد ما، في الكلى، وقد لا يعد ذلك مثابرة حقيقية إنما درجة خفيفة من الإصابة المزمنة Chronic.

٥ - الخواص المولدة للأورام Oncogenic propertics: يسبب العديد من فيروسات أدنو سرطانًا خاصة عندما تحقن في حيوانات مثل الهامستر Hamster، وأعلى قدرة سرطانية في أنواع ١٢، ١٨، ٣١. ومع ذلك، فلم يثبت حتى الآن أن أيًا من فيروسات أدنو يسبب سرطانًا في الإنسان.

٦ - إصابات منتشرة قاتلة تحدث في المرضى المثبطين مناعيًا Immunosuppressed ممن يزرع لهم كُلى Renal transplant.

وتسبب فيروسات أدنو نسبة مئوية عالية من إصابات القناة التنفسية العليا والسفلى في الأطفال، إذ تتراوح ما بين ١٠ - ١٩٪ من مجموع أنواع الأمراض التنفسية.

ويتم تنويع فيروسات أدنو بناء على النسبة المئوية للجوانين والسيتوسين C + G في ح ن د، وعلى حسب أنواع خلايا الدم التي تلزنها، علاوة على طول الألياف الممتدة من غطاء الفيروس.

والشيء الملفت للنظر هو أن المجندين حديثًا والمستدعين للخدمة Recruits في الجيش يصابون بنسبة ملحوظة عالية من الأمراض التنفسية التي تسببها أنواع أدنو ٣، ٤، ٧. ولهذا السبب، فقد أعدت القوات المسلحة في كثير من الدول لقاحات تضم الفيروسات الثلاث السابقة، إذ توفر مناعة لأفراد الجيش من المجندين حديثًا والمستدعين للاحتياط. ولكن يبدو أن هذا اللقاح ليس ذات فائدة كبيرة للجماهير العادية، نظرًا لأن الأعداد المعدية من فيروسات أدنو التي تهاجم المدنيين تكون أكثر من ذلك، أو ربما لأسباب غير معروفة.

(١٨,١,٣) الفيروسات التنفسية الأخرى Other Respiratory viruses:

(١٨,١,٣,١) فيروسات الإنفلونزا Influenza viruses:

تعد الإنفلونزا واحدًا من أهم الأمراض الوبائية Epidemic diseases. ومن وقت لآخر، تصبح الإنفلونزا وباء عالميا Pandemic يكتسح كل دول العالم في وقت واحد. ولعل أهم الأوبئة العالمية التي سببتها الإنفلونزا ما حدث في عامي ١٩١٨ و ١٩١٩م حيث قضت الإنفلونز ا على نحو ٢٠ مليونًا من البشر، أي أكثر مما سببته الحروب العالمية ذاتها. وترجع الوبائيات العالمية إلى ظهو ر سلالات جديدة متغيرة أنتيجينيًا.

ويتبع فيروس الإنفلونزا العائلة المخاطية الأصلية (Myxo = mucin = المخاط ، Orthomyxoviridae) لأن لها ميل للمخاط الموجود على الخلايا الطلائية الموجودة بالقناة التنفسية.

وتضم هذه العائلة جنسًا واحدًا، هو جنس فيروس الإنفلونزا Influenza، والذي يوجد منه ثلاثة أنماط Types، هي أ، ب، ج، حيث يفرق بينها أنتيجينيًا على أساس البروتين النووي Nucleoprotein الداخلي، وذلك باستخدام طريقة تثبيت المكمل (العامل المتمم) CF.

وتصيب إنفلونزا أ الإنسان وعددًا آخر من الحيوانات وهي التي تسبب وبائيات الإنفلونزا الأساسية، على حين أن إنفلونزا ب تسبب مرضًا أكثر اعتدالا في الإنسان، ولكنها تسبب، أيضًا، تفجرات Outbreaks (وبائيات) في الشتاء. وعلى حين يعتقد أن إنفلونزا ج لا تسبب مرضا للإنسان أصلا، إلا أنه قد تم عزلها حديثًا من الخنازير في الصين.

وقد تم عزل فيروس إنفلونزا أ لأول مرة عام ١٩٣٣م، بينما عزل كلا النوعين ب، ج عام ١٩٤٠م. وترجع خطورة إنفلونزا أ إلى أنه ينتج عنها إنحراف أنتيجيني Antigenic drift على مدى سنين طويلة، أو يكون فجأة تبديلا أنتيجينيًا Antigenic shift أشد وأقوى. وإنفلونزا أ هي الوحيدة التي لها قدرة هائلة على التبديل الأنتيجيني "Shift"، على حين أن كل الأنواع الثلاثة لها القدرة على الانحراف الأنتيجيني وإن كان أقل في النوع ج.

ويتركب الفيروس من دقائق كروية Spherical قطرها ٨٠ - ١٢٠ نانومترًا ولكنها قد تكون خيطية، لذا فهي متغيرة الشكل Pleomorphic. وللدقائق الفيروسية أغلفة حيث يخرج من الغلاف الدهني نوعان من الأشواك، هما الملزن Haemagglutinin الذي يلزن خلايا الدم الحمراء ونيورامينيديز Neuraminidase (وهو إنزيم يحلل حامض نيوراميك السكري). ويلي الغلاف بروتين الأرضية Neuraminidase الذي يحيط بالغطاء النووي Nucleocapsid الحلزوني، ثم يوجد في المركز محور Core يتكون من ٨ قطع من ح ن ر مفرد الخيط مجموع وزنها الجزيئي ٥ × ١٠^٦ وتكون ملفوفة حول نفسها بشدة، وتكون كتلة ترادف في معناها الأنتيجين الذائب Soluble antigen "S". ويوجد كذلك داخل الفيريون إنزيم النسخ، إنزيم بلمرة ح ن ر المعتمد على ح ن ر RNA-dependent RNA polymerase والذي يقوم بنسخ المورث لأن الأخير سالب المعنى ويكون نتيجة ذلك تكوين ح ن ر رسول mRNA.

وتتميز الملامح الإكلينيكية للإنفلونزا بما يلي:

الانتقال: بالإفرازات التنفسية.

فترة الحضانة: ١ - ٤ أيام.

الأعـراض: حمى وتعب Malaise وصداع Headache وآلام عامة Aches مع إفراز أنفي وعطس، وأحيانًا كحة مكتومة وربما حرقان الزور وخشونة الصوت Hoarsness مع آلام العضلات وفقدان الشهية. وتستمر الأعراض لنحو ٤ أيام مع التعب والإنهاك اللذين قد يثابران لفترة طويلة. ويتكاثر الفيروس في الخلايا الطلائية السطحية للقناة التنفسية العليا والسفلى. كما تسبب الإنفلونزا عطبًا في الأهداب وتقشيرًا Desquamation للخلايا الطلائية.

وينحصر الفيروس، بصفة عامة، في القناة التنفسية العليا. وعلى الرغم من أن المريض يشعر بمرض شديد أثناء الطور الحاد، إلا أنه يحدث شفاء تدريجي خلال ٣ - ٧ أيام. وتحدث الوفيات، غالبًا، من الإنفلونزا بسبب غزو القناة التنفسية السفلى إما بفيروس الإنفلونزا وإما بأنواع من البكتيريا مما ينتج عنه التهابًا رئويًا قاتلا. ويكون الالتهاب الرئوي الإنفلونزي الابتدائي سببا في التدهور المفاجيء وضيق التنفس وأعراض نقص الأكسجين Hypoxia، وصعوبة التنفس Dyspnoea، وزرقة Cyanosis الجلد، مما ينتج عنه تدهور في الدورة الدموية، ثم يموت المريض حتمًا. أما الالتهاب الرئوي البكتيري الثانوي، فهو شائع في الكبار أو الأشخاص الذين يعانون أمراضًا سابقة في القلب والرئتين. ويرجع ذلك لغزو البكتيريا نوع *Staphylococcus aureus*، أو *Haemophilus influenzae* أو *Streptococcus pneumoniae*. والمرض يسبب الموت لكنه أقل من النوع الابتدائي.

أ – **متلازمة ريي Reye's syndrome**: وهي حالة تتميز بالالتهاب المخي Encephalitis الحاد مع عطب شديد في الكبد. وتحدث، عادة، في الأطفال (٢ - ١٦ سنة) وتصل نسبة الوفيات فيها ما بين ١٠ - ٤٠٪. وسبب هذه المتلازمة غير معروف، ولكنه يحدث عقب الإصابة بعدة فيروسات مختلفة أخرى مثل فيروس الجدري المائي (العنقز) والحصبة الألمانية والحصبة وشلل الأطفال وفيروسات الأدنو. وتحدث هذه المتلازمة،

عادة، كحالات منفردة، ولكنها تحدث أثناء الوباء بالإنفلونزا بصورة متكتلة. وقد خلص مركز مكافحة الأمراض CDC في أمريكا من دراسته إلى أن استخدام الأسبرين لتخفيف الحمى والأعراض هو سبب هذه المتلازمة ولهذا، فإن أغلب الأسبرين الذي يباع في أمريكا مكتوب عليه تحذير من استخدام الأطفال للأسبرين عند إصابتهم بالإنفلونزا أو الجدري الكاذب أو غيرهما من أمراض فيروسية.

ب – وبائية الإنفلونزا Epidemiology of Influenza:

تحدث وبائيات الإنفلونزا أ كل ٢ - ٣ سنين، بينما تحدث تلك التي تسببها إنفلونزا - ب كل ٤ - ٦ سنوات. ومن المعروف أن أقوى الأنتيجينيات للإنفلونزا هي شوكة الملزنين (Haemagglutinin) التي يكون لها قدرة معادلة الفيروس عندما تتولد أجساما مضادة Antibodies لها ومن ثم، تكون واقية Protective عند معاودة الإصابة. أما أنتيجين الشوكة الثانية وهو نيورامينيديز، فإن الأجسام المضادة له لا تحمي من معاودة الإصابة وإن كانت تقلل من شدتها.

ومعاودة الوبائيات محتملة بسبب التغيرات الأنتيجينية التي تحدث في الهيم أجلوتينين (الملزنين)، إذ يسمح بنشر الفيروس في الناس غير الممنعين. ويفترض أن التغير الأنتيجيني يحدث بطريقتين: (١) الطفرات Mutations التلقائية داخل الفيروس مما ينتج عنه تغير أنتيجيني طفيف Minor في الملزن الدموي (وهذا ما يسمى بالانحراف الأنتيجيني Antigenic drift)، و (٢) عن طريق معاودة الارتباط Recombination بين سلالتين، واحدة من الطيور والأخرى من الحيوان أو الإنسان، فتعطي سلالة جديدة يكون قد حدث فيها تبديل شديد وخاصة في الأنتيجين الملزن للدم، أي يعطي أنتيجينًا جديدًا، وهذا ما يعرف بالتغيير الأنتيجيني Antigenic shift.

ويوجد عاملان يساهمان في تبادل المعلومات الوراثية، أولهما أن فيروس إنفلونزا أ يوجد في الطيور والحيوانات والإنسان، وثانيهما: أن المورث الفيروسي مجزأ مما يساعد في معاودة الارتباط أو إعادة التوزيع Reassortment. ومن السهل جدًا عمل تهجين أنتيجيني في المعمل بين سلالة إنفلونزا من الطيور وأخرى من الحيوانات عن طريق

الإصابة المتعددة Multiple infection بفيروسات مختلفة. وبسبب أن معظم الوبائيات العالمية تبدأ من الصين، وبسبب الطيور المهاجرة من أستراليا للصين، ولوجود الخنازير بكثرة في الصين، فإن هذين الخزانين يعدان مولدين للتغيير الأنتيجيني المسئول عن الوبائيات العالمية للإنفلونزا. ويرمز للوبائيات العالمية للإنفلونزا بالمعادلات التالية.

١ - وباء أ / اليابان/ عزله ٣٠ / سنة ١٩٥٧م A / Jap /30/57 (H_2 N_2).

٢ - وباء أ / هونج كونج/ عزله ١ / سنة ١٩٦٨م A / Hong Kong /1/68/ (H_3 N_2).

٣ - وباء أ / الاتحاد السوفيتي/ عزله ٩٠/ سنة ١٩٧٠م A / USSR/90/77 (H_1 N_1) وتسمى الإنفلونزا الحمراء (يشبه وباء ١٩٤٧م).

الجدول رقم (٨). مقارنة بين تكون الملزن الدموي ونيوراميديز في سلالات إنفلونزا أ البشرية.

السنة التي عزل فيها الفيروس	التكون الأنتيجيني
١٩٣٤م	H_0 N_1
١٩٤٧م	H_1 N_1
١٩٥٧م	H_2 N_2
١٩٦٨م	H_3 N_2
١٩٧٧م	H_1 N_1
١٩٨٩م	H_2 N_2

وحتى الآن (في عام ١٩٩٥م)، فإن كلا السلالتين H_3 N_3 و H_1 N_1 تنتشران معا وبمصاحبة سلالة ب / بنما. ،أشهر سلالات إنفلونزا - ب.

ب / هونج كونج / ١٩٧٣م B / Hong Kong / 1973.

ب / سنغافورة / ١٩٧٩م B / Singapore 1979.

ب / ياماجاتا / ١٩٨٨م B / Yamagata.

ب / بنما / ١٩٩٤م B / Panama.

إن عزل فيروس يشبه فيروس إنفلونزا الخنازير Swine من البشر عام ١٩٧٦م أثار اهتمامًا كبيرًا مؤداه الاعتقاد بأن سلالة إنفلونزا الخنازير هي التي سببت الوباء العالمي عام ١٩١٨م، ولو أن الفيروس لم يعزل أبدًا، لكن العديد من الناس الذين عاشوا خلال تلك الفترة كانت لديهم أجسام مضادة ضد فيروس انفلونزا الخنازير. لقد أدى هذا الوباء العالمي عام ١٩١٨م إلى موت ٥٤٨,٤٥٢ أمريكيًا خلال أسابيع، ونحو ١٢,٥ مليون بالهند و ٨٠٠,٠٠٠ بجزر الهند الشرقية (إندونيسيا). لقد أدى هذا الوباء إلى مسح العديد من القرى من على وجه الأرض.

وتشخص الإنفلونزا معمليًا باختبار تثبيت العامل المتمم(المكمل) CF لقياس الأنتيجين الذائب "S".

ولعزل الفيروس، تؤخذ عينة من بزل Aspirate الأنف بلعوم أو مسحة من الزور أو الأنف وتحقن في مزرعة من خلايا كُلى القرود، إذ يفحص فيها التلزن الدموي أو الادمصاص الدموي لخلايا الدم الحمراء البشرية مجموعة O. أما عند تحديد نوع السلالة فيلزم عمل اختبار تثبيط التلزن Haemagglutination inhibition (HI). كما يمكن عمل بيان مباشر لفيروس الإنفلونزا في عينة بزل من الأنف بلعوم وذلك عن طريق الكشف عن أنتيجينات الفيروس مباشرة بوساطة الوميض المناعي غير المباشر Indirect immunofluorescence.

جـ - مكافحة الإنفلونزا Control of influenza:

يستخدم - الآن - لقاح مثبط بالفورمالين لفيروس الإنفلونزا المنمى في أجنة الدجاج والذي يحقن في العضل. ولقد ثار جدل حول تناقض نتائج هذا التطعيم وجدواه. فالطعم Vaccine لا يستحث تكوين الجلوبيولين المناعي أ (IgA)، ومع أن هذا التحصين Immunization لا يعطي مناعة مطلقة، إلا أنه، على الأقل، يحور من المرض ويخففه. ومن أجل الحصول على أقصى وقاية، فإن ذلك يتطلب تحصينًا سنويًا باللقاح المركز، والذي، مع ذلك، سوف لن يكون له جدوى في حالة حدوث أي تغيير

أنتيجيني في الفيروس. إن الحماية ضد أي سلالة جديدة للإنفلونزا تتطلب أولا عزل الفيروس. كما أن اللقاح المنمى في بيض الدجاج المخصب يسبب حساسية لدى بعض الناس.

ولقد حدث أثناء الحملة التي أجرتها الولايات المتحدة الأمريكية عام ١٩٧٥م للتطعيم ضد ما يحتمل أن يكون وباء لإنفلونزا الخنازير، أن أصيب العديد ممن تلقوا التطعيم بشلل صاعد Ascendeng paralysis، وهو ما يعرف بعرض أو متلازمة جولين - باريه Guillain-Barre' syndrome. والذي بدأ بعد التطعيم ضد الإنفلونزا ببضعة ايام، وهو التهاب عصبي متعدد Polyneuritis يبدأ من الأقدام فصاعدًا، وهو يشفى تلقائيًا على الرغم من حاجة المريض لتنفس صناعي أثناء الطور الحاد، لأن الشلل يؤثر على عضلات التنفس. ويوجد - الآن - مدخل حديث لعمل لقاح أكثر نجاحًا للإنفلونزا، وذلك باستخدام طفرات مضعفة Attenuated من فيروس الإنفلونزا لتستحث استجابة مناعية أكثر فعالية. وأهم هذه اللقاحات الواعدة ذلك الذي طور من سلالة مكيفة للبرودة والتي نميت في خلايا جنين الدجاج حتى تم انتخاب طفرة نموها الأمثل عند درجة حرارة ٢٥° م، وباستخدام هذه السلالة الأساسية Master strain يمكن إعداد لقاحات حية بتقنيات معاودة الارتباط Recombination للحصول على أي من الانتيجين الملزن، أو النيورامينيديز المطلوبين. وتُعْطى هذه اللقاحات في الأنف Intranasally. ولقد أوضحت المحاولات الإكلينيكية أن هذه اللقاحات أكثر حماية من تحضيرات الفيروس الكاملة المثبطة بالفورمالين، ربما لاستحثاثها للجلوبيولين المناعي - أ (IgA). علاوة على ذلك، فإنها لا تسبب أي مرض للأطفال، لأن درجة حرارة نموها المثلى ١٠ - ١٢° م، وهي أقل بكثير من درجة حرارة مخاطيات الأنف. ويبدو استخدام هذه اللقاحات مرجحًا في القريب العاجل.

وثمة نوع آخر من اللقاحات وهو لقاح تحضير الفيروس المشطور Split virus preparation الذي يفصل فيها شوكتي التلزن الدموي ونيورانيديز عن بقية بروتينات الفيروس. ومثل هذا اللقاح يبدو أنه أكثر أمانا للأطفال من لقاح التحضير الكامل

للفيروس المثبط بالفورمالين. ولسوء الحظ، فإن لقاح الفيروس المشطور ليس مولدًا مناعيًا Immunogenic مثلما هو الحال بالنسبة للقاح الفيروس الكامل، أو يلزم إعطاء جرعتين من اللقاح بين كل منهما شهر من أجل أن تستحث مستوى واضحا من الأجسام المضادة في المصل لدى الأطفال.

وعلى الرغم من ضعف كفاءة اللقاحات المتاحة حاليا، إلا أنه يوصى بالتطعيم السنوي للمجموعات التي على خطر شديد، مثل مرضى السكر Diabetics، وأمراض الرئة المزمنة، والأشخاص الذين تخطوا سن ٦٥ سنة، وكذلك العاملين بمجال الرعاية الصحية، والأشخاص المهمين في المجتمع، أو الذين هم على خطر التعرض في أماكن موبوءة.

العـــلاج:

هناك معتقد خاطىء بأن أدوية تباع في الصيدليات تحت مسمى "مجموعة الإنفلونزا"، وهي عقاقير لا تعمل مباشرة ضد الفيروس أو تقلل من إصابته بقدر ما أنها مهدئة ومسكنة وتقلل من الحمى وبعض الآلام. ويفوق أخذ راحة للمريض وتناول فيتامين ج تأثير هذه الأدوية التي، إن استمر تكرارها، يكون لها آثار جانبية خطيرة، كما أن الأسبرين ممنوع على الأطفال المصابين بالإنفلونزا. وقد ظهر منذ الثمانينيات دواء أمانتادين هيدروكلوريد Amantadine hydrochloride وتبعه رايمانتادين Rimantadine اللذان نجحا، فقط، في علاج إنفلونزا أ وليس ب أو ج.

(١٨,٢) حميات الأطفال الفيروسية

Childhood viral fevers

تشمل الحميات الفيروسية الأساسية التي تصيب الأطفال تلك التي تسببها فيروسات الحصبة Measles، والغدة النكفية Mumps، والحصبة الألمانية Rubella، والجدري المائي (العنقز) Varicella zoser، و ب -١٩ الذي يسبب مرض الحمرة المعدية Erythema Infectiosum.

(١٨,٢,١) الحصبة Measles:

ومن مرادفاته الأخرى روبيولا Robeola وموربيللي Morbilli ويسبب أحد أمراض حميات الطفولة حول العالم.

(١٨,٢,١,١) خصائص الفيروس:

١ - يتبع عائلة شبه المخاطية Paramyxoviridae جنس موربيللي.
٢ - هو نوع مصلي واحد. المورث من ح ن ر (رنا RNA) مفرد الخيط المعنى.
٣ - الدقيقة الفيروسية مغلفة كبيرة نوعا ما، وقطرها مابين ١٢٠ - ٢٥٠ نانومترًا، وذات تماثل حلزوني.
٤ - يلزن خلايا الدم الحمراء، كما يحلل دمويًا Haemolyse خلايا دم القرود.
٥ - ينمو على خلايا رئة الإنسان الجنينية، وعلى الخلايا الابتدائية لكلى القرود مع تأثير مرضي خلوي CPE دمجي Syncytial من خلايا عملاقة عديدة الأنوية.
٦ - يصيب الإنسان، فقط، ويحدث فيه مرضًا.

(١٨,٢,١,٢) المـــرض:

يسبب الفيروس مرضًا حميًا في الأطفال، وكذلك يسبب مرض التصلب المخي الشامل تحت الحاد Subacute sclerosing panencephalitis (SSPE).

ومرض الحصبة قاسٍ وحاد وشديد العدوى ويحدث، غالبًا، في شكل وبائي خاصة في الربيع.

يبدأ المرض عند دخول الفيروس القناة التنفسية عن طريق الاتصال والقطيرات والزحام وتلوث الأيدي. فيصبح منغرسًا في الخلايا التنفسية.

فترة الحضانة: نحو ١٠- ١٢ يومًا بعدها يبدأ المرض.

الخواص الإكلينيكيــة: يبدأ المرض بحمى شديدة وهذيان الحمى Delirium والكحة وآلام العينين عند التعرض للضوء (خوف من الضوء Photophobia)، والذي

يكون مصحوبًا بالتهاب الملتحمة Conjunctivitis ، وطفح Rash (Exanthema) على كامل الجسم يكون بقعًا بثرية Maculopapular ، كما يظهر طفحًا داخليًا Exanthema يكون مميزًا ببقع حمراء ناصعة ذات نقطة مركزية بيضاء مزرقة ، وتسمى هذ البقع التي تظهر على مخاطيات الشفاه من الداخل ، ومخاطيات الفم ، بقع كوبليك Koplik's spots ، وهي ذات علاقة تشخيصية مهمة للحصبة. وتتكون بقع كوبليك من مثانات في الفم تتكون بسبب الإفراز الموضعي للمصل ، والذي تعقبه الخلايا الطلائية الداخلية. وعادة ما يسبق المرض بوادر منذرة Prodromal تتضمن حمى خفيفة وكحة وعتامة العينين.

ويلاحظ في هذا المرض أن الفيروس يتكاثر في القناة التنفسية العليا والملتحمة أثناء الطور المبكر للإصابة. وفي آخر فترة الحضانة ، يصل الفيروس إلى الدم محدثا فيريميا (Viraemia = أي تواجد الفيروس في الدم) ، ومنه ينتقل إلى كل أنحاء الجسم ، وخاصة الجلد ، مما ينتج عنه الطفح المميز للحصبة.

ويبدأ الطفح خلال ٤ - ٥ أيام من بدء ظهور المرض ، ويكون مصحوبًا بارتفاع حاد في درجة الحرارة. ويبدأ الطفح خلف الأذنين وعلى طول خط الشعر ، ثم لا يلبث أن يشمل سريعًا كل الجسم في فترة ٣ أيام. وفي اليوم الأول للطفح ، يكون الوجه مغطى بغزارة لكن ، فيما عدا ذلك ، تكون البقع قليلة. وبحلول اليوم الثاني ، يظهر الطفح كلطخ Blotches كبيرة على الجذع وفي اليوم الثالث ، يصبح الطفح شاملا مكتملا Confluent على الجسم ، فيما عدا بعض البقع التي تظل هكذا على الأطراف. ويبهت الطفح ويختفي بنفس نظام ظهوره ولكنه يبهت بطيئا تاركًا تلوينًا بنيًا Brownish pigmentation يختفي فيما بعد.

وأثناء تطور المرض يحدث تضخم عام للعقد الليمفاوية Generalized lymphoid hyperplasia . كما توجد خلايا عملاقة عديدة الأنوية في العقد الليمفاوية ، واللوز والغديدات Adenoids والطحال ، والزائدة الدودية.

ومن الواضح أن الأطفال المصابين يكونون شديدي العدوى للآخرين بدءًا من اليوم الثالث قبل ظهور الطفح وإلى نحو ٥ أيام من بعد ظهور الطفح.

ومن تعقيدات المرض التي قد تحدث نتيجة لانتشار الفيروس في كل أنحاء الجسم، وكما هو الحال في فيروس الإنفلونزا:

١ - حدوث إصابة بكتيرية ثانوية قد تسبب التهابا رئويًا، وإصابات في الأذن الوسطى، وخناقًا Croup، والتهاب القصبة الهوائية، أو التهاب القصيبات الهوائية، وكانت تلك الإصابات في الماضي أحد أسباب وفيات مرضى الحصبة، ولكن المضادات الحيوية عالجت هذا التعقيد.

٢ - التهاب رئوي الخلايا العملاقة Giant cell pneumonia: وهو تعقيد نادر يحدث، فقط، في الأطفال الذين يعانون نقصًا مناعيًا Imunodeficiency، أو من مرض مزمن منهك Debialating chronic نتيجة للغزو المباشر لفيروس الحصبة للرئات ويكون، عادة، مميتا، وعند فحص خلايا الرئة عقب الوفاة نجد فيها العديد من الخلايا العملاقة عديدة الأنوية.

٣ - التصلب المخي الشامل تحت الحاد Subacute sclerosing panencephalitis (SSPE)، على الرغم من أن مرض الحصبة يكون، في غالب الحالات، مرضًا حادًا، إلا أنه ذاتي الشفاء Self-limiting، ويؤدي إلى الشفاء التام خلال أسبوعين أو أقل. لكن من ضمن التعقيدات التي قد يسببها المرض، غير الالتهابات الرئوية، هو إصابته للجهاز العصبي المركزي CNS مسببًا التصلب المخي الشامل تحت الحاد، وهو مرض قاس يظهر عقب الإصابة الابتدائية للحصبة بنحو ٦-٧ سنوات. ويبدأ باضطراب في السلوك وفقد للوظائف العصبية، يعقبه نوبات صرع Seizures، وخرف Dementia وذلك خلال ١-٣ أعوام بعد بدء المرض.

(١٨,٢,١,٣)التشخيص والتعرف على الفيروس Diagnosis and virus identification:

يمكن الكشف عن الفيروس في الخلايا من الإفرازات التنفسية أو من البول وذلك بوساطة الوميض المناعي Immunofluorescence (IF). كما يمكن عزل الفيروس من الدم، ومن الإفرازات المخاطية، أو إفرازات الملتحمة، ومن البول، أو من أنسجة

صلبة بزراعتها في مزارع جنين الإنسان، أو خلايا كُلى القرود. وتوضح الخلايا المصابة بالحصبة التأثير المرضي الخلوي CPE، مع تكوين أجسام محتواة نووية وسيتوبلازمية، إيوسينوفيلية وتكوين مدمجات خلوية Syncytia، أو خلايا مغزلية في التمريرات Passages المبكرة والمتأخرة على الترتيب.

كما يمكن الكشف عن نمو الفيروس في الخلايا المحقونة بالادمصاص الدموي Haemadsorption بخلايا الدم الحمراء للقرود (ليس حساسًا مثل IF). وبالتمريرات المتابعة Serial passages للفيروس في المزارع الخلوية، يمكن تطويعه (تكييفه) Adapted، كما أنه يمكن أن ينتج روائق Plaques في المزارع الخلوية الابتدائية أو على الخطوط الخلوية Cell lines.

كما أن السلالات المتكيفة على الخلايا في المعمل يمكن أن تنمو بحقنها في البيض المخصب، ومزارع خلايا جنين الدجاج.

(١٨,٢,١,٤) الوبائية Epidemiology: فيروس الحصبة شديد العدوى، ويصيب أغلبية عظمى من الأطفال تحت سن ١٠ سنوات في كل أنحاء العالم. ويمكن أن يوجد متوطنًا Endemic، كما يحدث تفجرات وبائية كل عامين. وينتشر الفيروس عن طريق الهواء من خلال الإفرازات التنفسية للمرضى عند الطور المنذر، وفي المرض، وقبل بدء الطفح. وقد تكون الملتحمة طريقًا مهمًا لدخول الفيروس.

(١٨,٢,١,٥) المكافحة Control:

أ – المناعة السالبة والتحصين السالب Passive immunization:

يمكن إعطاء الجلوبيولين المناعي - ج البشري Human IgG تحت ظروف معينة، عندما يكون متوقعًا حدوث حالات حادة وقاسية.

ب – المناعة النشطة (التحصين) Active immunization:

يقدر أن عدة ملايين من الناس قد تمت حمايتهم من الإصابة بالحصبة بسبب برامج التطعيم كما لم تحدث، بناء على ذلك، وفيات أو تأخر عقلي.

ويستخدم لقاح حي مضعف Live attenuated vaccine، عادة، عند عمر ١٢ - ١٨ شهرًا. ولكن منظمة الصحة العالمية توصي في الدول النامية بأن يكون التطعيم مبكرًا بعد ٩ أشهر من العمر. وعند استخدام حقنة واحدة من اللقاح، فإنها تؤدي لإنتاج أجسام واقية في نحو ٩٥٪ من المطعمين Vaccinated.

اللقاح الثلاثي (MMR) Triple vaccine هو الذي يحتوي على لقاح للحصبة والغدة النكفية والحصبة الألمانية معًا، والذي يعطى لكل الأطفال في السنة الثانية من العمر، كما يوصى بإعطاء حقنة تعزيز Booster dose وإسراع Speed up عند دخول المدراس كما يعطى في بعض الدول، فقط، للبنات عند سن ١٠ - ١٤سنة. ويحقن اللقاح تحت الجلد أو في العضل ولا يجب أن يعطى للسيدات الحوامل ولا للمرضى بالنقص المناعي ولا الذين لديهم حساسية ضد البيض، لأن اللقاح منمى في بيض الدجاج المخصب.

كما أن الأفراد غير المحصنين الذين قد يتعرضون لوباء أو لسفرهم لمناطق موبوءة، يجب إعطاؤهم أولا جاماجلوبيولين (IgG) لمنع الإصابة كلية ثم، بعد ذلك، بثلاثة أو ستة أشهر يحصنون عاديًا باللقاح. وقد يرجع فشل التطعيم إلى: (١) لقاح معيب، (٢) برامج التحصين غير المناسبة أو الإعفاء منها، أو (٣) إعطاء اللقاح مبكرًا جدًا في حياة الطفل حيث تمنع المناعة السالبة من الأم من فائدة اللقاح.

(١٨,٢,٢) الغدة النكفية (النكاف = أبو لغد) Mumps:

ومن مرادفاته التهاب الغدد النكفية Parotitis في الإنسان. وهو مرض قد يتعقد بالالتهاب السحائي المخي Meningo-encephalitis، أو التهاب الخصى Orchitis، أو التهاب المبايض Oophoritis، وإلى درجة أقل بالتهاب البنكرياس Pancreatitis والتهاب الغدة الدرقية Thyroiditis، أو التهاب الأعصاب Neuritis، أو التهاب الملتحمة Conjunctivitis، أو التهاب القرنية Keratitis، أو التهاب قزحية العين Iritis، أو التهاب شبكية العين Retinitis. ومع هذا، فإنه يعد، أيضًا، من أمراض حميات الطفولة واسعة الانتشار حول العالم.

(١٨,٢,٢,١) خصائص الفيروس:

١ - يتبع عائلة شبه المخاطية Paramyxoviridare ، من ضمن جنس باراميكسو Paramyovirus.

٢ - هو نوع مصلي واحد. والفيروس يصيب الإنسان، فقط ، ولكنه ينتج مرضًا عند حقنه في القرود.

٣ - الفيروس ذو مورث =مجين (Genome) من ح ن ر (رنا = RNA) مفرد الخيط سالب المعنى.

٤ - الدقيقة الفيروسية مغلفة، قطرها ١١٠ - ١٧٠ نانومترًا، ذات تماثل حلزوني.

٥ - يلزن خلايا الدم الحمراء للدواجن.

٦ - ينمو في التجويف الأمنيوني الرهلي (= السَلَوِيّ) Amniotic cavity لجنين الدجاج ، وفي خلايا كُلى القرود ومزارع خلوية أخرى ، مع قدرته على الادمصاص الدموي Haemadosrption.

(١٨,٢,٢,٢) المرض:

مرض الغدة النكفية من أمراض حمى الطفولة ، ويسبب إصابة عامة حادة ، ويتميز بالتضخم غير المتقيح Non suppurative لغدة نكفية واحدة أو للاثنتين ، على الرغم من احتمال تورط أعضاء أخرى ، ويكون الأطفال الذين هم أقل من ١٥ سنة الأكثر قابلية للإصابة. وإكلينيكيًا ، فهو مرض حمى Febrile يصاحبه التهاب للغدد اللعابية ، مسببًا انتفاخًا مميزًا للغدد اللعابية ، والغدد تحت الفكية Submaxillary glands.

انتشار العدوى: الإنسان هو الخزان الوحيد ، وينتشر الفيروس بالاتصال المباشر ، والقطيرات الموجودة بالهواء ومن اللعاب ، ويحتمل من البول ، وتحدث أعلى نسبة إصابة في الربيع.

(١٨,٢,٢,٣) مراحل الإصابة:

فترة الحضانة: ١٨ - ٢١ يومًا بعد التعرض.

الأعراض المنذرة: تتميز بوعكة قصيرة وفقدان للشهية.

الأعراض: تضخم الغدد اللعابية: إصابة الغدد اللعابية تؤدي لانتفاخها، كما تنتشر الإصابة في الغدد النكفية المجاورة للآذان معطية التهابًا وانتفاخًا مميزًا خلف الأذن، مع ما يصاحبه من صعوبة البلع. ويصل الفيروس إلى مجرى الدم، محدثًا فيريميا، إذ قد تتكشف العدوى في المخ والسحايا والبنكرياس والمبايض والخصى والقلب. وقد يكون التهاب المخ والسحايا هو أخطر هذه التعقيدات، إذ قد يؤدي للوفاة. إلا أن أخطر ما يمكن أن ينشأ عن هذه التعقيدات هو إصابة الخصى Testes، وتكشف التهابها Orchitis، خاصة في الذين وصلوا سن البلوغ. وقد لا يكون التهاب الخصى مؤلمًا جدًا لكنه، في حالات نادرة، قد يؤدي إلى عقم Sterility مؤقت أو مستديم، خاصة إذا كان ثنائي الجانب Bilateral. كما أن الفتيات اللاتي يصبن أثناء البلوغ قد يحدث لهن التهاب في المبايض Oophoritis، والذي قد ينتج عنه عقم، ولو أنه بنسبة أقل كثيرًا عما يحدث في الذكور.

ولا يعد مرض النكفية شديد العدوى مثل أمراض أخرى من أمراض الطفولة، لهذا، فإنه من المألوف أن يصل بعض الأشخاص إلى سن البلوغ ولا يزالون عرضة للإصابة بالمرض لأنهم لم يصابوا أثناء الطفولة. عندئذ، تكون إصابتهم أخطر. وينتشر الفيروس من الأشخاص المصابين عن طريق إفرازات الفم والأنف.

ومن الواضح أن لفيروس الغدة النكفية ميلاً لإصابة الغدد والجهاز العصبي المركزي.

(١٨,٢,٢,٤) التشخيص والتعرف على الفيروس:

يمكن أن يعزل الفيروس من اللعاب ومن سائل المخ والنخاع الشوكي CSF في مرضى التعقيدات العصبية، وكذلك من البول. وتحقن أجنة الدجاج من عمر ٧ - ٨ أيام في التجويف الرهلي الأمنيوني، وتحضن لمدة ٤ - ٦ أيام عند درجة حرارة ٣٣ - ٣٦° م، إذ يمكن الكشف عن النمو الفيروسي في السائل الرهلي بوساطة اختبار التلزن الدموي HA، أو بوساطة اختبار تثبيت العامل المتمم CFT.

ويؤدي حقن المزارع الابتدائية لكُلى القرود، أو الابتدائيـة أو الخطـوط الخلويـة الجنينية البشـرية إلى تكويـن تأثير مرضـي خلـوي CPE مميز بـالدمج الخلـوي Syncitium والمحتويات الداخل نووية. كما يمكن، أيضًا، الكشف عن نمو الفـيروس في هـذه المزارع الخلوية بالادمصاص الدموي لخلايا الدم الحمراء للدجاج، أو لخنازير غينيا.

(١٨,٢,٢,٥) الوبائية Epidemiology:

الإنسـان هـو العـائل الوحيـد الطبيعي. ويحدث الانتقـال عـن طريـق إفـرازات اللعاب التي قد تحتوي على الفيروس من قبـل ٦أيام مـن المرض إلى ٩أيام بعـد بدئـه، ويفرز الفيروس، أيضًا، في البول والحليب، كما قد يوجد في لعاب أفراد لديهم إصابـة بدون أعراض.

وينتشـر المرض عالميًا في نهاية الشـتاء وبداية الربيـع ويصـل أعلى وبائياتـه في دورات كل ٧ - ٨ سنوات.

(١٨,٢,٢,٦) المكافحة Control:

لقد استخدمت الوقايـة السـالبة بـالجلوبيولين المنـاعي IgG والـذي يكـون قليـل الفائدة. ويعطى اللقاح الحي المضعف وحده أو ضمن اللقاح الثلاثي للحصبـة والنكفيـة والحصبة الألمانية والمسمى MMR والذي يعطي مناعة طويلة الأمد.

كما أن الأفراد المحصنين ضد الحصبة والغدة النكفيـة لا يصـابون، عـادة، بعـد عملية التحصـين؛ إذ وجـد، أيضًـا، أن الإصابـة الطبيعيـة بالفيروسـين والشـفاء منـهما يعطيان مناعة صلبة طوال الحياة.

(١٨,٢,٣) الحصبـة الألمانية (Rubella (German measles:

وهو المرض الفيروسي الثالث مـن حميات الطفولـة. والحصبـة الألمانيـة مـرض حمى معتدل حاد، ولكن إذا حدث مبكرًا أثناء حمل السيدات، فإن الفيروس يمكن أن يسبب تشوهات خلقية Congenital abnormalities ومرضًا في الجنين.

(١٨,٢,٣,١) خصائص الفيروس:

١ - كان يصنف ضمن العائلة العبائية Togaviridae ، ولكنه يصنف - الآن - في عائلة خاصة به هي عائلة روبي Rubiviridae.

٢ - الفيروس مغلف، متغير الشكل Pleomorphic ، حجمه ٥٠ - ٧٥ نانومترًا، وتمتد من الغلاف أشواك سطحية.

٣ - الجين (المورث genome) عبارة عن رنا (ح ن ر = RNA) مفرد الخيط.

٤ - يلزن خلايا الدم الحمراء للطيور.

٥ - ينمو في خط خلوي لكُلى الأرنب، هو RK-13 مع إنتاج تأثير مرضي خلوي CPE ، وينمو في أنواع الخلايا الأخرى بدون تأثير مرضي خلوي.

(١٨,٢,٣,٢) المرض

تحدث الإصابة من خلال الطبقة المخاطية للقناة التنفسية العليا. ويحتمل أن يتكاثر الفيروس، أساسًا، في العقد الليمفاوية العنقية، وبعد ٧ أيام، تتكشف الإصابة فيرعيا (أي يصل الفيروس لمجرى الدم)، والتي تستمر لحين ظهور الأجسام المضادة بعد نحو ١٢-١٤ يومًا. ويتزامن إنتاج الأجسام المضادة مع ظهور الطفح Rash ، مما يقترح أساسًا مناعيًا للطفح. وأثناء الطور الفيريمي يمكن عزل الفيروس من البول والبراز، وبعد ظهور الطفح، يمكن الكشف عن الفيروس، فقط، في التجويف الأنف بلعومي.

فترة الحضانة: ١٤ - ٢١ يومًا.

الطور المنذر: قصير (١ - ٢ يوم)، ويتميز بحمى معتدلة، أو بدون حمى، وفقدان للشهية وتوعك وصداع خفيف، أو لا يوجد ذلك كما لا توجد بقع كوبليك (التي تميز الحصبة). وأهم علاقة مميزة هي تضخم العقد الليمفاوية العنقية وطراوتها (خاصة الخلفية)، والتي تكون واضحة قبل ظهور الفطح بأربع وعشرين ساعة، وقد تثابر لنحو أسبوع.

(١٨,٢,٣,٣) الطفح: يظهر الطفح عند اليوم الثاني أو الثالث للمرض، والذي يبدأ من الوجه وينتشر لأسفل كما أنه يبهت عند اليوم الثالث ولا يترك صبغًا متبقيًا (مقارنة بالحصبة). وفي نسبة من الإصابات، يكون المرض بدون أعراض.

ومن التعقيدات التي تكون نادرة: الالتهاب المخي عقب العدوى، والطفح الأرجواني الناتج عن نقص الصفائح الدموية Thrombocytopenic purpura، وآلام المفاصل.

(١٨,٢,٣,٤) متلازمة الحصبة الألمانية الولادية Congenital rubella syndrome:

وهي إصابة في الأمهات الحوامل غير المحصنات، والتي إكتشفها طبيب العيون الأسترالي جريج Gregg عام ١٩٤١م. عندما لاحظ حالات عديدة من المياه البيضاء Cataract (كتراكت =سحابة العين) وكان ذلك عقب حدوث وباء من الحصبة الألمانية التي أصابت الأمهات الحوامل وأدت إلى حدوث عيوب ولادية (خلقية) في الأطفال المولودين. فعندما تصاب إمرأة حامل أثناء الثلث الأول، وخاصة الشهر الأول، يمكن أن تحدث تشوهات ولادية خطيرة نتيجة لفيروسية دم الأم (فيريميا) ولإصابة الجنين. وتعزى زيادة معدل الشذوذات أثناء الأسابيع الأولى من الحمل إلى أن تكشف الأعضاء، الحساس جدًا، يحدث في هذه الأثناء. وتشمل هذه التشوهات بالمياه البيضاء وسحابة العين (= كتراكت Cataract) وصمم العصب Nerve deafness وشذوذ القلب (مثل القناة الشريانية المفتوحة وعيوب في صمامات Ventricular septal وضيق الشريان الرئوي Pulmonary artery stenosis. كما توجد تشوهات خلقية أخرى نتيجة لإصابة الجنين إصابة عامة تؤدي إلى عيوب كثيرة تكون في مجموعها ما يسمى "متلازمة الحصبة الألمانية"، والتي تضم، أيضًا، تضخم الكبد والطحال Hepatospleenomegaly والطفح الأرجواني الناتج عن نقص الصفائح الدموية Thrombocytopenic purpura ونقص الوزن عند الميلاد والتخلف العقلي Mental retatdation والصفراء Jaundice وفقر الدم Anaemia وجروح على عظام الساق الطويلة.

وتتراوح نسبة حدوث متلازمة الحصبة الألمانية في الأشهر الثلاث الأولى من الحمل مابين ١٠ - ٥٤٪. كما ترتبط الحصبة الألمانية الولادية في هذه الأوقات بنسبة عالية من الإجهاض Abortion وموت الجنين Stillbirth، وكذلك يتزايد معدل كل من الصمم وعيوب الإبصار أكثر مع نمو الأطفال المصابين ولاديًا، أيضًا.

ويوجد لدى الأطفال المصابين بمتلازمة الحصبة الألمانية جلوبيولينات مناعية من نوع م IgM. ومن حالات تعقيدات الحصبة الألمانية الولادية، أيضًا، ظهورمرض الالتهاب المخي الشامل تحت الحاد التصلبي Subacute sclerosing panencephalitis (SSPE).

(١٨,٢,٣,٥) التشخيص والتعريف:

عادة ما تستخدم طرق التشخيص لتأكيد إصابة السيدة الحامل بالحصبة الألمانية أو الحصبة الألمانية الولادية: كما تستخدم للكشف عن السيدات اللائي يرغبن في الحمل أو المترددات على عيادات رعاية الحوامل:

١ - الكشف عن الجلوبيولين المناعي م (IgM): يستخدم لتشخيص الإصابة الحديثة بالفيروس والذي يكشف في عينه دم واحدة عن وجود IgM ويتم ذلك بوساطة إليزا ELISA، أو الوميض المناعي.

٢ - اختبار تثبيط التلزن الدموي Haemagglutination - inhibition test (HI) وقد قل استخدامه حاليًا، وفيه يكشف عن ارتفاع عيار الجلوبيولين المناعي ج (IgG) ويجب أن يجري على أكثر من عينة بينها فاصل ثلاثة أيام، على الأقل.

عزل الفيروس: يستخدم، غالبًا، لتشخيص وجود حصبة ألمانية ولادية في الجنين. وقد استبدلت - الآن - بتقنية جزيئية حديثة تستخدم فيها تفاعل سلسلة إنزيم البلمرة (PCR) Polymerase Chain Reaction للكشف عن المادة الوراثية لفيروس الحصبة الألمانية.

حقن الفيروس: تحقن العينة في الخطوط الخلوية RK-13 من كلى الأرنب أو SIRC (من قرنية الأرنب) وبعد ذلك، يلاحظ ظهور التأثير المرضي الخلوي CPE من عدمه.

التحلل الدموي وحيد القطر: Single radial haemolysis: يستخدم على نطاق واسع للكشف عن وجود مناعة عند الأم الحامل أو النساء اللاتي هن على خطر خاص مثل مربيات الأطفال والمدرسات، وهو لا يقيس عيار الجسم المضاد وليس مناسبا لتشخيص الحصبة الألمانية.

(١٨,٢,٣,٦) المكافحة Control:

لا يوجد علاج Treatment بمضادات فيروسية مثل أغلب الفيروسات. أما الوقاية Protection، فتكون باكتساب مناعة نشطة باستخدام لقاح حي مضعف. واللقاح فعال وطويل الأمد (لعشر سنوات، على الأقل) ولا يسبب إلا القليل من الآثار الجانبية باستثناء آلام المفاصل المؤقت عند بعض النساء وهو يعطى تحت الجلد للأطفال من ٥ - ١٥ شهرًا من العمر (عادة، بالتشارك مع لقاحي الحصبة والنكاف في اللقاح الثلاثي MMR)، وللنساء الشابات غير المحصنات، إذا لم يكن حوامل، ويجب أن يتناولن موانع الحمل خلال الأشهر الثلاث التالية (أو يتجنبن المعاشرة الجنسية).

ويفضل إعطاء البنات من سن ١٠ - ١٤ سنة وكذلك النسوة غير المحصنات اللاتي يرغبن في الحمل لقاح الحصبة الألمانية وهو الفيروس الحي المضعف ويعطى مرة واحدة تحت الجلد أو في العضل.

التحصين السالب Passive immunization. وذلك بوساطة الجلوبيولين المناعي العادي الذي يضعف الإصابة بالحصبة الألمانية أو يكون له تأثيرات واقية ضد الإصابة بالفيروس. ويمكن إعطاؤه عند إصابة الأم بالحصبة الألمانية إذا لم يكن إنهاء Termination الحمل مرغوبًا فيه.

(١٨,٢,٤) الجدري المائي = الجدري الكاذب = العنقز والقوباء النطاقية Chickenpox (فيروس فاريسيللا - زوستر Varicella - zoster virus):

هذا هو المرض الرابع من الأمراض الحمية الفيروسية في الأطفال، ويسمى الفيروس المسبب فاريسيللا - زوستر الذي يسبب شكلين من المرض هما: الجدري المائي (الكاذب) Chickenpox والقوباء (الحلأ النطاقية) Herpes zoster (Shingles)، فهما إذن مرضان يسببهما فيروس واحد ولكن تحت ظروف مختلفة، ولعل انتشار الشكل الأول وهو فاريسيللا - أي الجدري المائي يكون هو الأول والذي يحدث، عادة، في

الطفولة ويكون أكثر انتشارا ووبائية عن الشكل الثاني، زوستر أو القوباء النطاقية، والذي لا يعد إصابة ثانية، ولكنه قد ينتج بعد عدة سنوات (أي في كبار السن) من الإصابة الأولى للجدري المائي التي تكون في شكل معاودة تنشيط Reactivation لفاريسيللا فيتحول إلى زوستر أي الشكل المرضي الثاني المختلف إكلينيكيا عن مرض الجدري المائي والذي لا يكون معديًا، وتكون حالاته متباعدة وليست وبائية إنما يمكن أن يسبب عدوى ابتدائية بالفيروس للأشخاص الحساسين أو الذين لم يصبهم الفيروس سابقًا، فينتج عن ذلك جدري مائي وليس زوستر.

(١٨,٢,٤,١) خصائص الفيروس:

١ - يتبع العائلة القوبائية Herpesviridae.

٢ - يقسم ضمن جنس القوباء ألفا Alphaherpesviruses، ويسمى، أيضًا، بالقوباء البشري رقم -٣(Human herpes –3) وهو نوع مصلي واحد.

٣ - الفيروس مغلف ويخرج من الغلاف الواسع أشواكًا ويليه شغاف Tegument ويوجد للداخل غطاء من كابسوميرات سداسية مجوفة، وفي المحور، يستقر الحامض النووي من ح ن د مزدوج الخيط تختلط به إنزيمات منها إنزيم ثايميدين كاينيز Thymidine Kinase.

٤ - ينمو ببطء في المزارع الخلوية البشرية معطيًا تأثيرًا مرضيًا خلويًا موضعيا Focal CPE.

(١٨,٢,٤,٢) المرض: الجدري المائي أو: الجدري الكاذب (العنقز):

هو مرض حمى للطفولة واسع الانتشار والوبائية إلا أنه حميد ويتميز بطفح بقعي Papular rash والذي يصبح، سريعًا، مثانيًا Vesicular تحتوي بثراته على سائل مائي (من هنا، جاءت التسمية الجدري المائي وكذلك الجدري الكاذب لأن بثراته تختلف عن بثرات الجدري أي ليست قيحية على الرغم من أن مظهرها وانتشارها يشبه ما يحدث في مرض الجدري من فيروس الجدري) ثم تصبح البثرات، بعد ذلك قشرية Scabby جافة. وتظهر الجروح Lesions أولاً على فروة الرأس والجذع، ثم تنتشر إلى

الأطراف، كما توجد على السطوح المخاطية، أيضًا. ويظهر الطفح المثاني في موجات متتابعة، لذا توجد معًا جروح من أزمنة مختلفة. كما أن احتكاك أصابع المريض بهذه الجروح يؤدي لتكوين طفح جديد.

وتتراوح فترة الحضانة بين ١٢-١٤ يومًا، ويسبق ظهور الجروح (الطفح) حمى وتوعك. وعند حدوث إصابة ابتدائية في البالغين، فإن نفس المظاهر المرضية تكون كما في الأطفال، فيما عدا أنها تكون أشد قسوة في البالغين وتأخذ الجروح وقتًا أطول حتى تشفى، كما قد تترك ندبات Scars أكثر عمقًا في الجلد وخاصة في الوجه والجبهة مع احتمال التهاب رئوي فاريسيللي.

ويحدث الفيروس إصابته عن طريق دخوله خلال الفم بلعوم Oropharynx، وبعد عدة دورات من التكاثر عند موضع الحقن، ينتشر عن طريق مجرى الدم والجهاز الشبكي البطاني Reticuloendothelial system. ويمكن عزل الفيروس من الدم المحيطي من الخلايا وحيدة شكل النواة قبل ظهور الجروح.

ويستقر الفيروس - في كثير من الأحيان عقب الشفاء من الإصابة الابتدائية في حالة كمون Latent state في العقد العصبية الحسية Sensory ganglia، والتي قد يحدث فيها معاودة تنشيط Reactivation فتعطي بعد عدة سنين شكلا مرضيا ثانيا هو القوباء النطاقية Zoster = shingles.

ومن تعقيدات الجدري المائي (العنقز) وهي نادرة: الالتهاب المخي عقب الإصابة والفاريسيللا النزفية (الشاملة) Haemorrhagic varicella. أما في الكبار، فيكون أهم التعقيدات هو الالتهاب الرئوي الذي قد يعقبه تكلس في الرئات Pulmonary calcification.

فاريسيللا الولادية Congenital varicella: وهي نادرة جدًا، إذ يعقب إصابة الأم الحامل بفاريسيللا مبكرًا في الحمل أن يظهر لدى الطفل متلازمة هي الأطراف الضامرة Limb hypoplasia، وضمور العضلات Muscular atrophy وتخلف عقلي وحركي.

فاريسيللا قبل الولادة أو في الأطفال حديثي الولادة: Prenatal and neonatal Varicella قد تؤثر إصابة الأم الحامل قبل الوضع على الطفل، فإذا أصيبت الأم بفاريسيللا قبل الوضع بـ ٥ أيام، فإن المرض يكون خفيفًا في الطفل: وذلك لأن المرض يكون قد تحور في الطفل عن طريق الأجسام المضادة الولادية Maternal antibodies، أما إذا إكتسبت الإصابة خلال ٥ أيام من بعد الوضع، فلا تكون هناك أجسام مضادة من الأم ويكون الطفل عرضة لتكشف مرض خطير. كما قد توجد فاريسيللا قاسية بشكل غير عادي، أيضًا، في الأم الحامل مع تكشف التهاب رئوي.

وتحدث وبائيات الجدري المائي (العنقز) أكثر في نهاية الشتاء وبداية الربيع، ويكون الانتشار الوبائي عن طريق استنشاق الإفرازات التنفسية، كما ينتقل بالملامسة من التلوث وخاصة أن الفيروس يوجد في جروح الجلد. وفاريسيللا مرض وبائي شديد العدوى يكتسب عن طريق الاتصال بالحالات المصابة بالجدري المائي، أو من الحالات المصابة بزوستر (القوباء النطاقية)، ولكن بدرجة أقل من الحالة الأولى.

(٣,٤,٢,١٨) القوباء النطاقية (زوستر Zoster (shingles: هي عدوى من العصب الحسي بوساطة فيروس فاريسيلا - زوستر الذي استقر في إصابة كامنة فيه. وهو يحدث في البالغين الذين كانوا قد أصيبوا بالجدري المائي في وقت طفولتهم والذين هم حصينين، جزئيًا، ضد الفيروس. والقوباء النطاقية مرض شديد الإيلام تحدث فيه الجروح (الطفح)، فقط، على طول العصب الحسي. ويمكن أن ينتج الشلل إذا حدثت الإصابة في الحبل الشوكي، ولكن عادة ما يشفى في نحو ٢ - ٤ أسابيع. كما أن الأطفال الأصحاء الذين يتعرضون لبالغين مصابين بالقوباء النطاقية يتكشف لديهم الجدري المائي الواضح. ولكنه قد يسبب التهابًا للأعصاب متبقيًا Residual neuralgia.

وهناك دليل جيد على أن الفيروس يثابر في الأنسجة العصبية بعد الشفاء من الجدري المائي. وقد لا يمثل هذا مشكلة للغالبية، ولكن، في نسبة صغيرة جدًا من البالغين، يعاود الفيروس الكامن تنشيطه وبالتالي، يسبب إصابة في العصب الحسي.

ونحن لا نعرف ما الذي يطلق هذا، ولكن من المعروف أن زوستر قد يحدث عقب الجروح (رض) Trauma، أو مرض حمى معين وهو شائع، بصفة خاصة، في المصابين بابيضاض الدم Leukemia وغيرها من السرطانات. وتزداد نسبة حدوث زوستر مع زيادة العمر، لذا فإن نحو نصف الحالات تحدث في الأشخاص الذين تخطوا سن الخمسين. ولأن سبب الفيروس داخلي، لذا فإن التعرض للجدري المائي أو للقوباء النطاقية ليس جزءًا ضروريًا من إمراضية القوباء النطاقية (زوستر).

ومما تجدر الإشارة إليه، فإن وبائيات زوستر متفرقة Sporadic ولا ترتبط بأي توزيع موسمي. الشيء الآخر الذي يجب التأكيد عليه هو أن الطفح القوبائي يظهر في منطقة واحدة من الجسم ولا ينتشر كما هو الحال في الجدري المائي.

(١٨,٢,٤,٤) التشخيص والتعرف على الفيروس:

إن تشخيص أي من الجدري المائي (فاريسيللا) والقوباء النطاقية (زوستر) اللذين يتسببان بفيروس واحد (فاريسيللا - زوستر) يتم دائمًا على أساس الصورة الإكلينيكية. فيروس الجدري Smallpox هو المرض الوحيد الأساسي الذي تكون صورته الإكلينيكية مماثلة للجدري المائي، ويتم التمييز بين هذين المرضين بالملاحظة النسيجية Histological observation، للخلايا الموجودة في المثانات. وحيث إن فيروس فاريسيللا - زوستر يمكن تنميته في المزارع الخلوية، لذا، فإن التعرف الإيجابي يمكن إجراؤه باستخدام التقنيات المصلية، أيضًا.

الدراسات المصلية Serology: يمكن أن يفيد اختبار تثبيت المكمل (العامل المتمم) في كل من فاريسيللا - وزوستر على الرغم من أن الصورة الإكللينيكية مميزة. وعلى خلاف معاودات التنشيط Reactivations التي تحدث في القوباء البسيط Herpes simplex، فإن زوستر يسبب، عادة، ارتفاعًا في عيار الأجسام المضادة.

البيان المباشر Direct demonstration: للدقائق الفيروسية القوبائية بفحص السائل المائي من المثانات بوساطة المجهر الإلكتروني، وهي طريقة سريعة في تأكيد التشخيص الإكلينيكي (ولكن تجدر ملاحظة أن هذا لا يميز بين فيروس فاريسيللا - زوستر).

ولا يوجد علاج مرضي لكل من الجدري المائي أو القوباء النطاقية على الرغم من أن أسايكلوفير Acyclovir وفايداربين Vidarabine قد استخدما بنجاح لتخفيف Alleviate الأعراض وخاصة في المرضى المتساحين مناعيًا Immunocompromised. ويجب ألا يستخدم الكورتيزون Cortisone، أو الأسترويدات Steroids لأنهما يمكن أن يسببا زيادة في قسوة المرضين. أما الأطفال المصابون بابيضاض الدم، أو بمتلازمات النقص المناعي Immunodeficiency syndromes، أو الذين يتناولون أدوية مثبطة مناعيا Immunosuppressive drugs، فإنهم يجب أن يعطوا الجلوبيولين المناعي لزوستر لمنع المرض أو تحويره.

كما تم حديثا تسويق عقار فامسيكلوفير Famciclovir، وهو مشابه لسايكلوفير لعلاج زوستر.

كذلك نجح اليابانيون مؤخرًا في عمل لقاح حي مضعف وجد أنه فعال في توليد المناعة Immunogen والذي سيعمم تطبيقه مع لقاحات الحصبة والغدة النكفية والحصبة الألمانية فيعطى للأطفال من سن ١٥ شهرًا.

(١٨,٢,٥) مرض الحمرة المعدية Erythema infectiosum:

وهو ما يسمى بمرض الخد المصفوع "Slapped cheek" أو المرض الخامس Fifth لأنه خامس مرض حمى فيروسي للطفولة. ويسبب هذا المرض فيروس بارفو البشري ب -١٩ (Human parvovirus B -19).

(١٨,٢,٥,١) خواص الفيروس:

١ - يتبع عائلة بارفو Parvoviridae وهو من فيروسات بارفو ذاتية التكاثر Autonomously replicating .

٢ - الفيروس صغير الحجم، دقائقه الإيكوزاهيدرالية غير متميزة المعالم، قطرها ١٨ - ٢٦ نانومترًا.

٣ - المورث (المجين genome)، من ح ن د (دنا = DNA) مفرد الخيط.

٤ - يلزن خلايا الدم الحمراء.

٥ - ينمو في المزارع الخلوية، ولكن بصعوبة ويحتاج لتقنية خاصة.

(١٨,٢,٥,٢) المرض:

يسبب المرض في الأطفال: حمى وطفح دموي Erythematous rash يكون كثيفا، بشكل خاص، على الخدود معطيًا لها الحمرة الوردية من ثم، جاءت تسميته بالخد المصفوع، أو الحمرة المعدية. ويصبح الطفح على الجسم والأطراف بقعيا Maculopapular. إذ يلاحظ أن الجروح (الطفح الأحمر) تخفت في اللون بدءًا بالمركز تاركة حدودًا حمراء، وبذا تعطي المظهر الشبكي أو شكل رباط الحذاء. كما يصاحب المرض إصابة عامة معتدلة في العقد اللمفاوية Lymphadenopathy. ويسبب في النساء، بشكل خاص، آلام المفاصل Arthralgia، مشابهًا في ذلك مرض الحصبة الألمانية. ويتم الشفاء بعد بضعة أيام. ومن التعقيدات التهاب المفاصل Arthritis وآلام المفاصل Arthralgia، خاصة في المرضى من النساء البالغات. وعادة ما تختفي هذه الأعراض خلال أسابيع قليلة، ولكن يمكنها أن تثابر لبضعة سنوات. وقد يسبب الفيروس تفجرات وبائية Outbreaks في أطفال المدارس بعضها واضح سريرياً وبعضها الآخر تحت سريري.

ويسبب فيروس ب -١٩ مرضًا يسمى عدم تكوين الخلايا المأساوي Aplastic crisis الذي يصيب خلايا تكوين الدم Haemapoietic cells في نخاع العظام والذي يحدث بصفة أساسية في الأطفال الذين يعانون فقر الدم التحللي المزمن Chronic haemolytic anaemias، مثل فقر الدم المنجلي Sickle cell anaemia، أو وجود الخلايا الحمر الكروية الوراثي Hereditary spherocytosis، أو ثالاسيميا Thalassaemia (أو ما يسمى بأنيما البحر الأبيض المتوسط).

كما تظهر في بعض الأفراد، أيضًا، إصابة بدون أعراض Symptomless في نحو ٢٠٪ من الأشخاص.

ومثل الحصبة الألمانية، يسبب فيروس ب -١٩ في النساء الحوامل ما يعرف باستسقاء الجنين Hydrops fetalis. ومع أن معظم الإصابات الولادية تكون بدون

أعراض ويتكشف الجنين عاديًا، إلا أن الجنين يكون في حالات خاصة عرضة للإصابة بالفيروس بدءا من الأسبوع العاشر حتى العشرين من الحمل. عندئذ، يحدث الفيروس إصابة قاسية وقاتلة مما يسبب الموت ونقصًا حادًا في مستوى الهيموجلوبين. ويشبه استسقاء الجنين هنا نظيره الذي يحدث من عدم مطابقة مجموعة الدم ريزاس ولهذا يطلق على متلازمة فيروس بارفو استسقاء الجنين غير المناعي Non-immune hydrops fetalis.

أما بالنسة للأطفال الذين يعانون من إبيضاض الدم، ومن الأشكال الأخرى من النقص المناعي، فإن فيروس ب -١٩ يسبب لهم فقر الدم المزمن Chronic anaemia والذي يحدث، أيضًا، لدى المرضى المزروع لهم أعضاء.

الوبائيــة: يحـدث المـرض وبائيـات في المجتمـع كل نحو ٤ سنوات. ومن بين هذه التفجيرات الوبائية، يسبب فيروس ب -١٩ المتوطن إصابات متفرقة.

التشخيص: بالأمصال. حيث تستخدم إليزا ELISA أو المعايرة المناعية الإشعاعية RIA للكشف عن الجلوبيولين المناعي - م (IgM) الخاص بالفيروس. كما يمكن بالبيان المباشر للفيروس سواء بفحص الدقائق الفيروسية بالمجهر الإلكتروني أو عن طريق ح ن د الفيروسـي Viral DNA، وذلك باستخدام مجس Probe مع تقنية سلسلة تفاعل إنزيم البلمرة PCR.

(١٨,٣) فيروسات الالتهاب الكبدي

Hepatitis viruses

لقد كان فيروس الالتهاب الكبدي - أ هو أول الفيروسات التي عرف أنها تسبب التهابا للكبد بصفة أساسية، وأن الموضع الرئيسي والهدف من الإصابة الفيروسية هو الكبد والخلايا الكبدية. ثم اكتشف فيروس الالتهاب الكبدي - ب بعد ذلك وظهرت التهابات كبدية فيروسية أخرى سميت الالتهاب الكبدي لا - أ ولا - ب، لكن بمجرد الكشف عن طبيعتها، سميت بأسمائها الحالية، وهي ج، د، هـ، وأخيرًا، اكتشف فيروسان جديدان، هما: إف F وجي G.

وإذ يعد ظهور الصفراء Jaundice والخلل في وظائف الكبد من ضمن الملامح الإكلينيكية في الالتهابات الكبدية الفيروسية، إلا أن بعض الفيروسات الأخرى التي لا

يكون هدفها الأساسي هو الكبد، يمكنها أن تسبب هذين المظهرين، لذا، فإنها تسبب إلتهابًا كبديًا ولكن كجزء من إصابة عامة لا تقتصر، أساسًا، على الكبد. ومن بين هذه الفيروسات الأخيرة: فيروس إبشتاين وبار Epstein-Barr virus وفيروس مضخم الخلايا Cytomegalovirus وفيروس القوباء البسيط Herpes-simplex virus والحصبة الألمانية Rubella virus والغدة النكفية Mumps virus وفيروسات إيكو ECHO viruses والحمى الصفراء Yellow fever virus.

وتعد الأمراض الفيروسية الكبدية من أخطر الأمراض الفيروسية في الوقت الراهن لشدة وبائياتها وتعدد وسائل انتشارها وإصابتها لمعظم فئات المجتمع، فضلا عن أن بعضها يسبب السرطان ومن ثم، ترتفع نسبة الوفيات. ولقد ساعد المجهر الإلكتروني والتقنيات الحديثة في اكتشاف هذه الفيروسات وسرعة تشخيصها ودراستها، الأمر الذي ساهم في الحد من انتشارها وفهم الكيفية التي تعمل بها ومن ثم، طرق مكافحتها وعلاجها.

ومن أهم ملامح الأمراض الفيروسية التي تسبب الالتهاب الكبدي: الصفراء Jaundice، وحمى خفيفة وفقد الشهية Anorexia والميل للقيء والتوعك - والتي تسبق ظهور الصفراء.

الصفراء Jaundice: هي إنسداد في الكبد مع ارتفاع البيليروبين Bilirubin ومن ثم، يظهر في البول فيعطيه اللون الداكن على حين يصبح البراز باهتًا.

إنزيمات ناقلة الأمين Transaminases: حيث ترتفع، خاصة، نسبة إنزيم ناقل أمين ألانين Alanine amino transaminase (ALT)، وكذلك نسبة إنزيم ناقل الجلوتامين الموجود بالمصل Serum glutamic transaminase.

ويلاحظ أن بعض الالتهابات الفيروسية الكبدية قد تكون صفراوية Icteric، أو غير صفراوية Anicteric وكذلك قد تكون بلا أعراض Symptomless، كما قد تحدث فيها تعقيدات مثل النخر الكبير في الكبد Massive liver necrosis، وقد تحدث فيروسات ب، ج، د، أ إصابات مزمنة Chronic hepatitis (ب، ج)، أو قد تؤدي إلى السرطان Hepatocellular carcinoma (ب، ج، د) (الجدول رقم ٩).

الجدول رقم (٩). الخصائص المميزة لفيروسات الالتهاب الكبدي.

الفيروس / الصفة	أ HAV	ب HBV	ج HCV	د HDV	هـ HEV
الجين (المورث)	ح ن ر مفرد الخيط s.s RNA	ح ن ر مزدوج الخيط d.s-DNA	ح ن ر مفرد الخيط s.s-RNA	ح ن ر مفرد الخيط s.s-RNA فيروس مذنب يحتاج فيروسًا مساعدًا Helper	ح ن ر مفرد الخيط s.s-RNA
العائلة	Picornaviridae	Hepadnaviridae	Flaviviridae	Viroid	Caliciviridae
الانتقال	البراز – الفم والطعام والماء	الجنس والدم وولاديا	الدم (وغيره)	الجنس والدم وولاديا	الفم – البراز والمياه والأغذية
فترة الحضانة	طويلة، نحو ٤ أسابيع	طويلة ٢ – ٥ أشهر	٥ – ١٠ أسابيع	؟	٣٠ – ٤٠ يومًا
موسم الإصابة	أعلى في الشتاء	طوال العام	طوال العام	طوال العام	طوال العام
قطر الفيروس	٢٧ نانومترًا	٤٢ نانومترًا	٦٠ – ٧٠ نانومترًا	٣٥ – ٣٧ نانومترًا	٢٧ – ٣٤ نانومترًا
طرق التشخيص	١ – وظائف الكبد ٢ – إليزا: ELISA للكشف عن IgM	١ – وظائف الكبد إليزا: للكشف عن الأنتيجين السطحي HBsAg (إصابة حادة أو حمل) أو أنتيجين إي HBeAg (يوجد في الدم). (حمل أو مرض الكبد المزمن)، وكذلك الكشف عن	١ – وظائف الكبد ٢ – إليزا: ELISA وسلسلة تفاعل إنزيم البلمرة PCR	١ – وظائف الكبد ٢ – إليزا: ELISA دلتا أنتيجين	١ – وظائف الكبد ٢ – إليزا ELISA

تابع الجدول رقم (٩).

الفيروس الصفة	أ HAV	ب HBV	ج HCV	د HDV	هـ HEV
		مضادات أنتيجين anti HBcAg IgG – إصابة مبكرة. IgG: حاملين أو شفاء من الإصابة. ومضادة الأنتيجين السطحي = تظهر بعد anti HbcAg وقد تستمر بعد الشفاء ودليل على نجاح التطعيم: ومضادة الأنتيجين إي HBeAg anti تعني عدوى قليلة في الدم ومؤثرة على مرض الكبد المزمن.			
ارتباطه بسرطان الكبد	لا يسببه	يسببه	يسببه	يسببه	لا يسببه
اللقاح	يوجد	يوجد	لا يوجد	لا يوجد	تحت التجريب
بالجلوبيولين المناعي	فعال	غير فعال	غير فعال	غير فعال	فعال

(١٨,٤) فيروس نقص المناعة البشري (إتش آي في):

Human Immunodeficiency Virus (HIV)

متلازمة نقص المناعة المكتسبة أو الأيدز

Acquired immunodeficiency syndrome = AIDS

(١٨,٤,١) الأيدز AIDS:

يتميز الأيدز بدرجة عالية من النقص المناعي المصحوب بعدد منخفض ومتناقص من الخلايا التائية الزمرة الرابعة CD_4. وينتج عن هذا سلاسل من الإصابات الانتهازية Opportunistic infections من الأحياء الدقيقة وبعض الأورام - سرطان كابوزي Kaposi sarcoma المميزة، بشكل خاص، والتي لا تخضع لتحكم الآليات المناعية للمريض، ومن ثم، تتكاثر مجموعة مختلفة من الأمراض القاسية، بشكل غير عادي، والمثابرة Persistent. والأمراض الكاشفة Indicator للأيدز مبينة في الجدول رقم ١٠.

الجدول رقم (١٠). الأمراض الكاشفة في الأيدز عن (1994 [illegible]).

الإصابة [illegible]	المرض D.sece
الطفيليات *Parasites*:	
نيموسيستيس كارينياي[1] *Pneumocystis carinii*	التهاب رئوي Pneumonia
كريتوسبوريديام *Cryptosporidium*	إسهال Diarrobea
أيزوسبورا بللاي *Isospora belli*	إسهال
مرض توكسوبلازموزيس في المخ Toxoplamosis	التهاب مخي Encephalitis
الفيروسات *Viruses*:	
القوباء (الحلأ) البسيط Herpes simplex	تقرح فمي (oral ulceratim) مطول، التهاب الرئات Pneumonitis والتهاب المريء Oesophagitis.
فيروس مضخم الخلايا Cytomegalovirus	التهاب رئوي Pneumonia التهاب الشبكية Retinitis
فيروس جيه سي JC - virus	مرض الخلايا البيضاء المخي متعدد المواضع المتقدم Progressive multifocal encephalopathy

(١) تقترح النتائج الجزيئية أن هذا يرجع إلى كونه فطرًا أكثر من كونه طفيلاً.

تابع الجدول رقم (١٠).

الإصابة infection	المرض Disease
البكتيريا *Bacteria*	
مايكوبكتيريام آفيام وأنواع أخرى *Mycobacterium avium*	مرض منتشر خارج الرئات
مايكوبكتيريام تيوبركيولوزيس *Mycobacterium tuberculosis*	السل الرئوي Tuberculosis في الرئات وخارج الرئات
أنواع سالمونيلا *Salmonella* spp.	تسمم دموي جرثومي septicemia، معاود recurrent
الفطريات *Fungi*	
كانديدا أَلبيكانز *Candida albicans*	إصابة في المريء وفي الرئات
مرض كوكسيديومايكوزيس Coccidiomycosis	خارج الرئات
كريبتوكوكاس نيوفورمانز *Cryptococcus neoformans*	التهاب سحائي meningitis
مرض هستوبلازموزيس Histoplasmosis	منتشر Disseminated
الأورام Tumors	سرطان الرحم الغازي
	ليمفوما بيوركيت، مخي، مرض مخي
غيرها Other	
إتش آي في HIV	مرض النحول wasting disease
	التهاب رئوي، معاود

والمرض قاتل Fatal على الإطلاق، على الرغم من أن علاج فيروس إتش آي في (HIV) (بوساطة إيه زد تي AZT أو العقاقير الأخرى) وعلاج الأمراض المصاحبة يطيلان العمر لكن الموت حتمي. ومن ثم، فإن الأيدز والسعار وإيبولا هي أمراض فيروسية حتمية الموت للمصابين بها.

(١٨,٤,١,١) الأيدز في الأطفال AIDS in infants:

الأمهات المصابات Infected mothers ينقلن الفيروس إتش آي في (HIV) لأطفالهن في خُمْس $\frac{1}{5}$ الحالات: وينتشر الفيروس في الطفل إما:

(أ) بالمشيمة Transplacentaily - بسبب إصابة في الرحم *in utero*.

(ب) وإما أثناء الوضع Delivery أو في فترة ماقبل الوضع Perinatal.

(ج) وإما من خلال الرضاعة الطبيعية.

وسريرياً Clinically يظهر الأطفال المصابون الأعراض التالية :

الفشل في النمو Faliure to thrive

الحمى Fever

الإسهال Diarrhoea

وتتضمن الأمراض الغالبة الإصابات الانتهازية Opportunistic والمنتشرة Disseminated : مرض العقد الليمفية Lymphadenopathy والالتهاب الرئوي الليمفي الخلالي Lymphoid interstitial pneumonia والتهاب الغدة النكفية Parotitis وتضخم الكبد والطحال Hepatosplenomegaly ، والمرض العصبي Neurological disease : أغلب الأحيان هو مرض مخي متقدم Progressive encephalopathy ، وفي بعض الأحيان عته Dementia وتشنجات Convulsions واضطرابات حركية Motor disorders.

على الرغم من أن الأيدز في الأطفال AIDS in infants يشبه الأيدز في البالغين ، إلا أن الالتهاب الرئوي الليمفي الخلالي وتضخم الغدة النكفية لا يمكن رؤيتهما في مرض البالغين.

الأمراض Pathology (١٨,٤,١,٢):

كثيرًا ما يوصف الأيدز بأنه مرض خلايا ت الليمفاوية المساعدة سي دي -٤ CD_4 helper T- lymphocytes ، ولكن الفيروس ، على الرغم من أن الأنسجة الليمفية تعد أعظم الأهداف الواضحة للفيروس (حيث يتصل نوعيا بمستقبلات سي دي -٤ CD_4 receptors على خلايا مثل البلاعم الكبيرة Macrophages) ، يسبب إصابة منتشرة Disseminated infection ويؤثر على أعضاء عديدة : مثل المخ والأمعاء ونخاع العظام والجلد ، ولازالت العملية المرضية المشمولة في دورة الإصابة غير واضحة.

الوبائية Epidemiology

الانتقال : Transmission

(أ) جنسي Sexual

(ب) عن غير طريق الفم (بالحقن - زَرْقًا) بوساطة الدم الملوث أو منتجات الدم أو بوساطة مشاركة الإبرة Needle-sharing بين مدمني المخدرات Drug abusers.

(جـ) في الرحم *in utero*، أو من الأم للطفل، أو عن طريق لبن الصدر.

مصادر الفيروس Sources of virus. يوجد الفيروس في الدم والمني والإفرازات المهبلية Vaginal secretions ولبن الصدر.

الخطر الشديد High risk: يكون أشخاص معينون على خطر شديد من العدوى من خلال طرق متاحة مثل:

١ - متعددي العلاقات الجنسية Promiscuous، يعني أولئك الذين يغيرون مشاركيهم في الجنس.

٢ - حقن مدمني المخدرات Injecting drug abusers.

٣ - مرضى النزف الدموي Haemophiliacs.

٤ - الأطفال الذين يولدون لأمهات مصابات.

عمال الرعاية الصحية Health care workers: يوجد تقرير غير دقيق بالنسبة لعمال الرعاية الصحية من خلال وخزات الإبر Needlesticks وفي الجراحة وفي المعامل. علاوة على ذلك، توجد حالات نادرة مثل الحالة المشهورة لطبيب أسنان من ولاية فلوريدا الذي سبب عدوى لبعض مرضاه، والذي انتقلت فيه العدوى لمرضى من خلال الطريقة الطبية التي عالج بها.

جغرافيًا Geographical: توجد اختلافات واضحة:

أفريقيا Africa: في أفريقيا جنوب الصحراء الكبرى، تكون عدوى الأيدز وبائية Epidemic ويوجد حدوث أعلى لفيروس إتش آي في HIV في المجموعات النشطة جنسيًا (في بعض المدن حتى ٢٠٪). وبسبب الأيدز، مشاركًا معه السل Tuberculosis، الإماتة Mortality العالية في مناطق عديدة. ويكون الانتقال بدرجة كبيرة من خلال ممارسة الجنس المتباين Heterosexual intercourse.

آسيا **Asia**: كانت خالية في السابق، أما الآن فإن الأيدز متوطن Endemic ويتزايد بمعدل مخيف (يرتبط غالبًا بالعاهرات (المومسات Prostitutes) في تايلاند وأجزاء من الهند. ويعد تعاطي المخدرات بالحقن الوريد Intravenous drug abuse، أيضًا، عاملا مهمًا في بعض المناطق.

الولايات المتحدة الأمريكية وأوروبا الغربيـــة USA and Western Europe: تم اكتساب أغلب العدوى بوساطة الممارسة الجنسية الشرجية في الشواذ جنسيًا Homosexuals من الرجال. ولا يزال، الانتشار عن طريق الجنس المتباين Heterosexual (العادي بين رجل وامرأة) حتى الآن مسئولا عن حالات نادرة، فقط. وقد أصيب مرضى النزف الدموي (الناعوريين) عن طريق تلوث عامل ٨ (Factor VIII) من المانحين المصابين (يتم التحكم فيه، الآن، بغربلة [فحص Screening] الدم والمعاملة الحرارية). وتسود الإصابة بفيروس اتش آي في (HIV)، غالبًا، في مجتمعات مدن داخلية معينة. وقد أظهر مدمنو المخدرات الذين يتشاركون الإبر، أيضًا، حدوثًا عاليًا للإصابة في بعض المدن.

(١٨,٤,١,٣) الخصائص الفيروسية Virology:

١ - فيروس عكسي Retrovirus وتركيب المورث (Genome = الجينوم) كما ذكر سابقًا: جين إنف Env gene، والذي يشفر Codes للبروتين السكري الأساسي للغلاف، ويظهر درجة واضحة من التباين التلقائي Spontaneous variation ويوجد جين جاج (المحور) وبول (الإنزيم).

٢ - الفحص بالمجهر الإلكتروني: دقيقة فيروس عكسي من نوع - د (D - type).

٣ - ينمو في مزارع الخلايا الليمفاوية، ولكن مع تأثير مرضي خلوي CPE متباين (توجد بعض الأدلة على أن التأثير المرضي الخلوي السريع يرتبط مع شراسة Virulence الإصابة في المرضى المعينين). وينتج عن الزراعة المشتركة Co-cultivation مع خلايا أخرى معينة تكوين مدمج خلوي Syncytium مما يسمح بالكشف عن نمو الفيروس.

(١٨,٤,١,٤) التشخيص Diagnosis:

مصليًا، إليزا ELISA: إن كان موجبًا، يتم تأكيده باختبارات إليزا إضافية وبالشف الغربي Western blot لتحليل الأجسام المضادة من ا لمريض وتفاعلها ضد البروتينات المفردة الفيروسية. ويمكن أن يميز بين إصابتي HIV-1 و HIV-2 بالاختبارات المصلية وبوساطة اختبار سلسلة تفاعل إنزيم البلمرة PCR، أيضًا. ويمكن الكشف عن أنتيجين المحور (جاج، ب٢٤) Core antigen (gag-p24) عند بداية الإصابة وفي آخر المرض.

(١٨,٤,١,٥) بيان منتجات الفيروس Demonstration of virus products:

(١) ح ن ر النوعي للفيروس Virus-specific RNA: بوساطة PCR في الدم وسوائل الجسم الأخرى.

(٢) زراعة الفيروس: ممكنة، لكنها مجهدة Laborious.

(١٨,٤,١,٦) الإصابة في الأطفال Infection in infants: صعب تشخيصها بسبب مثابرة الأجسام المضادة المستمدة من الأم في كل الأطفال الذين ولدوا لأمهات مصابات. تعد مثابرة الجسم المضاد لفيروس إتش آي في (HIV) فوق ١٥ شهرًا دليلا قويًا على الإصابة ويمكن لـ PCR الكشف عن الإصابة مبكرًا.

(١٨,٤,١,٧) العلاج Treatment:

هدف على هدفين:

١ - فيروس نقص المناعة البشري HIV - أزيدوثايميدين Azidothymidine (أيه زد تي AZT): لا يستأصل الفيروس لكنه يؤخر تقدمه، ثنائي دي أوكسي إينوسين Dideoxyinosine (DDI)، وهو، أيضًا، مضاد فيروسي نيوكليوسيدي، يستخدم - الآن - على أساس التجريب.

٢ - الإصابات الانتهازية المشتركة والأورام - تعالج بالعقاقير الضد ميكروبية والعلاج الكيميائي Chemotherapy كل بما يناسبه.

الفصل التاسع عشر

بعض أمثلة من الفيروسات التي تسبب أمراضًا للحيوان

Some Examples of Viruses Causing Animal Diseases

(١٩,١) فيروس مرض نيوكاسل Newcastle Disease Virus (NDV) (شوطة الدجاج):

مرض نيوكاسل (شوطة الدجاج) مرض معدٍ شديد العدوى ومدمر يهاجم، أساسًا، الدجاج والدجاج الرومي وتصاب به، أحيانا، أنواع من الطيور الأخرى، كما يصيب الفيروس الإنسان إصابة وظيفية Occupational خاصة المشتغلين في مزارع الدواجن وصناعة الدواجن ومعامل أبحاثها. وقد ظهر المرض لأول مرة عام ١٩٢٦م في جزيرة جاوا لكنه أحدث في مدينة نيوكاسل بإنجلترا وباء شديدًا. وعند عزل العامل المسبب للمرض، سمي بمرض نيوكاسل (Doyle,1927) وظهر في الهند عام ١٩٢٨م (Edwards) وفي كوريا عام ١٩٢٩م (Konno *et. al.*) وفي الفلبين عام ١٩٣٠م (Farinas). وخلال ١٠ سنوات، انتشر في كل من شرق إفريقيا واليابان وأستراليا. وقد سجل لأول مرة في أمريكا عام ١٩٤٤م، كما ظهر في كندا لأول مرة عام ١٩٤٨م.

يُقسَّم مرض نيوكاسل على حسب سلالات (عترات) الفيروس إلى:

١ - نوع دويل Doyle's type. وهو أشد الأنواع حدة وهو يسبب عدوى حادة قاتلة لكل أعمار الدجاج ومن أهم الأعراض المرضية الواضحة وجود جروح نزفية Haemorrhagic lesions في القناة الهضمية، وتسمى هذه السلالة شديدة الضراوة Velogenic strain السلالة الآسيوية Asian NDV.

٢ - نوع بيتش Beach's type. وصفة بيتش عام ١٩٤٢م وهو يسبب مرضًا حادًا وغالبًا ما تكون الإصابة مميتة لكل أعمار الدجاج ويتميز بجروح في القناة التنفسية وفي الجهاز العصبي، وتسمى هذه السلالة شديدة الضراوة Velogenic، أيضًا.

٣ - نوع بوديت Baudette's type: وتم التعرف عليه بوساطة بوديت وبلاك Baudette & Black عام ١٩٤٦م، وهو يسبب إصابة تنفسية حادة قد تصاحبها أعراض عصبية، وهو مميت للدجاج الصغير، أما في الدجاج الكبير فالإماتة نادرة. وسلالات هذا النوع متوسطة الضراوة Mesogenic وتستخدم بعض سلالاتها (عتراتها) في عمل اللقاحات Vaccines.

٤ - نوع هيتشنر Hitchener's type وقد وصفه كل من هيتشنر وجونسون Hitchener & Johnson عام ١٩٤٨م وهو يسبب إصابة خفيفة Mild أو غير ظاهرة Inapparent (صامتة) للدجاج، لذا فإنها تسمى السلالات خفيفة الضراوة Lentogenic. ويستخدم العديد من هذه السلالات على نطاق أوسع في عمل اللقاحات.

(١٩,١,١) خصائص الفيروس:

١ - فيروس ح ن ر (رنا = RNA) مفرد الخيط سالب المعنى مغلف متغير الشكل Pleomorphic. يتراوح حجم الدقائق الفيروسية مابين ١٢٠-٣٠٠ نانومتر وفي المتوسط ١٨٠ نانومترًا. يكتسب الفيروس الغلاف الدهني من غشاء الخلية الذي تخرج منه أشواك.

٢ - يتبع جنس فيروس باراميكسو Paramyxovirus من العائلة شبه المخاطية Paramyxoviridae.

٣ - له القدرة على أن يلزن خلايا الدم الحمراء Haemagglutinate وكذلك أن ينفرط منها Elute أي يمتلك خاصيتي الملزن الدموي Haemagglutinin وإنزيم نيوراميتيديرز Neuraminidase على الترتيب وتساوي وحدة التلزن الدموي Haemagglutinating unit نحو ١٠٠,٠٠٠ وحدة فيروسية (أو فيريون).

٤ - يمتلك محللاً دمويًا Haemolysin ، لهذا ، فإن الفيروس يمكن أن يحلل دمويا تلك الخلايا الحمراء التي يلزنها.

٥ - يحدث الفيروس إصابة للخلايا بعد أن يندمج غشاء الفيروس مع غشاء الخلية.

٦ - يتأثر الفيروس بدرجات الحرارة ؛ فعند درجة ١٠٠° م يدمر الفيروس تماما خلال دقيقة واحدة ، وعند درجة ٥٦° م تتحطم القدرة على الإصابة ونشاط التلزن الدموي وقدرة التوليد المناعي Immunogenicity خلال فترة تتراوح بين ٥ دقائق و ٦ ساعات. أما عند درجة ٣٧° م ، فإن ساعات وأيامًا تلزم لتستحث هذه التغيرات. كما يمكن تخزينه عند درجة ٢٠° م لمدة شهور أو عند ٨° م لبضع سنين.

٧ - الفيروس يتحمل مدى واسعًا من الأس الهيدروجيني ما بين ٢ - ١٠ .

٨ - يستخدم بيتا بروبيولاكتون β-propiolactone والفينول لتدمير عدوى الفيروس دون إعطاب القدرة على التوليد المناعي.

٩ - يتم إكثار الفيروس معمليًا ولصناعة اللقاحات في جنين الدجاج (بالحقن في التجويف السقائي (الألانتوي) Allantoic cavity أو في المزارع الخلوية خاصة الخلايا الليفية لجنين الدجاج (Chicken embryo fibroblasts (CEF.

١٠ - توجد منه سلالات كثيرة ، ومن السلالات غير الشرسة F,B; Avirulent (Lentogenic). ولاسوتا La Sota التي تستخدم على نطاق واسع في عمل اللقاحات. ومن بين السلالات شديدة الضراوة (Velogenic =virulent) ميلانو Milano وهيرتس GB,Herts اللتان تستخدمان في التجارب كفيروسات تحدٍ Challenge.

١١ - أهم الأنتيجينات توجد كأشواك في الغلاف ، وهي التي تسبب التلزن الدموي HA وتستحث على تكوين أجسام مضادة معادلة Neutralizing Ab's ، وأجسام مضادة مثبطة للتلزن الدموي HI ، ويوجد في المحور أنتيجين البروتين النووي (NP) Nucleoprotein ، ويسمى الأنتيجين الفيروسي أو الذائب ، ويكشف عنه بوساطة العامل المتمم (المكمل).

(١٩,١,٢) خصائص المرض:

(١٩,١,٢,١) طريقة العدوى: عن طريق الرذاذ Aerosol بوساطة الأنف أو من الفم بين القطيع. فمن الواضح أن الطيور المصابة بعد يومين من التعرض للعدوى وقبل يوم واحد من ظهور الأعراض، تبدأ في تحرير الفيروس في الهواء والذي يستمر لعدة أيام وهذا ما يسبب عدوى مدمرة للقطيع في العنابر أو أماكن التربية، ومن المياه الملوثة والأغذية الملوثة وكذلك من البراز والأتربة. كما يلاحظ، أن العدوى قد تحدث، أيضًا، في البيض المخصب في أي مرحلة مما يؤدي إلى الوفاة خاصة بدءًا من ٤ - ٥ أيام بعد التحضين.

كما قد تحدث العدوى من اللقاح سواء في القطعان أو في المناطق المختلفة إما بسبب أن الفيروس غير مثبط تمامًا وإما لأنه يحتوي على فيروس نشط ملوث Contaminant للقاح.

(١٩,١,٢,٢) فترة الحضانة: مابين ٢ - ١٥ يومًا بعد التعرض للإصابة الطبيعية وفي المتوسط ٥ - ٦ أيام.

(١٩,١,٢,٣) الأعراض: في نوع دويل Doyle's type: يظهر المرض فجأة وأحيانًا توجد طيور ميتة دون أن تظهر أية علامات. وفي أغلب الإصابات، يظهر الطير كسولا Listless ويزداد التنفس ويصبح ضعيفًا ويسبق الموت انهيار جسدي Prostration (إنهاك) خلال ٤ - ٨ أيام. وشائع، أيضًا، انتفاخ Oedema للأنسجة حول العين والزور. كما قد يحدث إسهال مخضر يكون، أحيانًا، مدممًا Bloodstained. ومن الأعراض التنفسية صعوبة التنفس وتمديد العنق وفتح المنقار وإصدار صوت متحشرج وسعال، ورشح من الأنف والعينين واحتقان بالعرف، وأحيانًا، ورم حول العينين.

أما الأعراض العصبية فتشمل ارتعاشات تقلصية Clonic spasms وارتجافات Termors عضلية والتفاف الرقبة Torticollis وهو من الأعراض المميزة، والمشي للخلف Opisthotonos واختلال المشي وتهدل الأجنحة والرقاد، وأحيانًا، الشلل (خاصة بالجناح أو الأرجل) وتزداد هذه الأعراض بتقدم المرض.

وتنتشر هذه الأعراض سريعًا في القطيع وفي الحالات الحادة، يصحبها نفوق يصل إلى ٩٠٪.

أما في الدجاج الكبير، فتختلف الصورة إذ تظهر أولاً، أعراض تنفسية وتكون أكثر حدة في الدجاج غير المحصن فيحدث فيه فتك شديد، كما يلاحظ انخفاض في استهلاك الطعام وانخفاض أو توقف تام عن إنتاج البيض لعدة أيام، يعقبه إنتاج بيض مشوه وضعيف القشرة. وقد يتحسن الإنتاج، إلى حد ما، في الدجاج الذي يشفى خلال ٦ - ٨ أسابيع، ولكن بمعدل أقل من المعتاد.

وتتوقف شراسة المرض من عدمها على:

١ - سلالة الفيروس. ٢ - الجرعة. ٣ - عمر الطائر.

(١٩,١,٢,٤)المناعة Immunity:

كل سلالات فيروس نيوكاسل NDV قادرة على استثارة استجابة الأجسام المضادة في الدجاج والأرانب وأنواع أخرى من الحيوانات، وتقفل الأجسام المضادة المعادلة قدرة الفيروس على إحداث إصابة. وتوجد الأجسام المضادة المثبطة للتلزن الدموي Haemagglutination inhibiting antibodies (HIAb) والأجسام المضادة المعادلة Neutralizing antibodies في مصل الدجاج بعد ٦ - ١٠ أيام من الإصابة في الوقت الذي لا تكون فيه قد ظهرت الأعراض الإكلينيكية، وتصل أعلاها خلال ٣ - ٤ أسابيع. وتتناقص بعد ذلك ببطء خلال ٣ - ٤ أشهر لكنها تكاد تختفي بعد ٨ - ١٢ شهرًا. وتبدأ أولاً الأجسام المضادة المثبطة للتلزن الدموي في الوقت الذي تظل فيه الأجسام المضادة المعادلة عالية. كما تظهر أجسام مضادة إفرازية Secretory في إفرازات الأنف والقصبة الهوائية والأمعاء في نفس الوقت الذي تظهر فيه الأجسام المضادة الخلطية Humoral في الدم.

(١٩,١,٢,٥) التشخيص Diagnosis:

يتم التشخيص المرضي بوساطة الأعراض والصفات التشريحية، لكنه يشبه أمراضا أخرى مثل إنفلونزا الطيور (طاعون الدجاج) والمرض التنفسي المزمن والتهاب

الحنجرة والقصبة الهوائية وغيرها. لهذا فإن التشخيص يتم، أساسًا، في المعمل على عينات في الأطوار المبكرة للمرض حيث إن الفيروس يختفي سريعًا من أنسجة العائل بمجرد أن تتكون أجسام مضادة دوارة في الدم.

ويتم عزل الفيروس من إفرازات القصبة الهوائية والرئة والطحال والمخ وغيرها من الأعضاء وتوضع العينات في محلول فسيولوجي معقم وتجرى عليها اختبارات:

١ - تثبيط التلزن الدموي HI test.

٢ - إليزا ELISA.

٣ - الحقن في جنين الدجاج.

٤ - الحقن في المزارع النسيجية للخلايا الليفية لجنين الدجاج CEF.

٥ - معادلة الفيروس في أجنة الدجاج بوساطة الأجسام المضادة المعادلة وكذلك في المزارع النسيجية للخلايا الليفية لجنين الدجاج.

(١٩,١,٢,٦) الوقاية والمكافحة Prevention and Control:

وفي الوقاية، يمنع الاتصال بين الفيروس والطيور التي عندها قابلية للإصابة وذلك باتباع النظافة والتطعيم.

ومن اللقاحات Vaccines، اللقاح المثبط أو المقتول وذلك بجمع المادة الفيروسية من أجنة الدجاج المحقونة وتثبط بوساطة الفورمالدهيد أو بنفسجي الكريستال أو بيتا بروبيولاكتون. أما اللقاح الحي فينمى، أيضًا، في أجنة الدجاج أو ا لمزارع الخلوية الطيرية أو الثديية (قد تفضل الأخيرة على أساس عدم وجود فيروسات طيرية كامنة).

ومن سلالات اللقاح غير الضارية (Lentogenic) B_1، ولاسوتا و F وهي الأقل إمراضيًا، وتستخدم لكل الأعمار للحقن في الأنف أو في العين أو تخلط مع مياه الشرب أو ترش تعفيرًا أو رذاذًا.

أما السلالات متوسطة الضراوة Mesogenic، مثل روكين Roakin وماكتسوار Mukteswar و H وكوماروف [Komarov & Goldsmith ١٩٦٤م (حيفا بفلسطين المحتلة)،

فإنها تحقن في نسيج الجناح Wing web أو في العضل أو في جيب الريشة للكتاكيت أكبر من ٤ أسابيع، لأن الكتاكيت الأقل من ٣ أسابيع يكون لديها أجسام مناعية من الأم من خلال مح البيض Yolk.

(١٩,٢) فيروس الطاعون البقري Rinderpest Virus (RPV) (Cattle plague).

يسبب فيروس الطاعون البقري RPV مرضًا من أخطر الأمراض الفيروسية التي تصيب الماشية، ألا وهو الطاعون البقري الذي ينتشر بشكل وبائي مدمر خاصة في أفريقيا والشرق الأوسط وآسيا وبلدان أخرى من العالم. كما يصيب الفيروس الجاموس والأغنام، وربما الماعز.

(١٩,٢,١) خصائص الفيروس:

١ - يتبع عائلة الفيروسات شبه المخاطية Paramyxoviridae من جنس فيروس موربيللي Morbillivirus.

٢ - الفيريونات متغيرة الشكل بين الخيطية والكروية، قطرها ١٢-٢٤ نانومترًا. والفيروس مغلف تخرج منه أشواك تتميز بخاصيتي نشاط إنزيم نيوراميניديز (N) Neuraminadase وأشواك الاندماج Fusion (F). لكن لا يمتلك خاصية التلزن الدموي، ويوجد بداخل الغلاف الغطاء النووي Nucleoprotein المتميز بالتماثل الحلزوني.

٣ - يحتوي الفيروس على جزيء واحد من الحامض النووي ح ن ر RNA السالب كما يحتوي على إنزيم بلمرة ح ن ر الناسخ RNA transcriptase.

٤ - يخرج الفيروس من الحيوانات المصابة في الإفرازات Secretions والإخراجات Excretions ولكنه يثبط بسهولة بالأحماض والقلويات والأشعة فوق البنفسجية والحرارة.

٥ - تحدث الإصابة بالتنفس والرذاذ. وبعد إدمصاص الفيروس في المخاطيات، يذهب إلى العقد الليمفاوية الصارفة Draining، ومنها إلى كل أنحاء الجهاز الليمفاوي.

يعقب ذلك وصول الفيروس لمجرى الدم (فيريميا Viraemia) ومنه إلى مختلف الخلايا الطلائية Epithelia، خاصة الموجودة بالقناة الهضمية حيث يحدث فيها الفيروس تأثيره المرضي الخلوي CPE مؤديًا لظهور الجروح Lesions. ويتكاثر الفيروس مبكرًا وبسرعة وتستمر أنتيجينات الفيروس في كل أنحاء الجسم وبعيارية عالية وغالبًا ما تثابر طوال الحياة عقب الشفاء.

٦ - توجد سلالات مختلفة للفيروس تتباين في إمراضيتها، لكن يوجد نوع مصلي Serotype واحد أساسي من الفيروس ومن ثم، فإنه يحمى ضد كل السلالات عند التحصين.

(١٩,٢,٢) خصائص المرض:

يتميز الطاعون البقري بأنه مرض حمي Febrile حاد يصيب المجترات Ruminants وغيرها من الحيوانات مشقوقة الظلف Cloven hoofed (Artiodactyla). كما أن الخنازير الأوروبية عرضة للإصابة ويتكشف فيها مرض تحت سريري وتنز Shed الفيروس. أما الأبقار والجاموس، فهي الأكثر عرضة للإصابة بالمرض السريري (الطاعون البقري). ويمكن أن يسبب وفيات Mortality فيما يزيد على ٩٠٪. ولهذا يعد عبر التاريخ من أهم الأمراض المسئولة عن الخسارة الفادحة في الماشية. ولا يزال المرض موجودًا بإفريقيا الاستوائية وعلى مسار نهر النيل وشبه القارة الهندية وجنوب شرقي آسيا. لكن المرض قد استؤصل من أوروبا ولم يسجل في أمريكا على حين حدثت تفجرات وبائية Outbreaks لمرة واحدة في أستراليا والبرازيل.

(١٩,٢,٢,٣) طريقة العدوى: ينتقل المرض بالاتصال المباشر بين الحيوانات المصابة. ويوجد الفيروس في الإفرازات الأنفية والبول والبراز. وقد ارتبط انتشار المرض في مناطق كانت خالية من قبل من الفيروس بإدخال الحيوانات الحية وليس عن طريق اللحوم المصابة أو المواد الغذائية أو ماشابهها. ومع ذلك، فإن الخنازير قد تكتسب العدوى بابتلاع لحوم مصابة ومن ثم، تنقل العدوى للماشية. كما يمكن أن تنتقل

الإصابة، أيضًا، من الغنم والماعز للماشية والعكس صحيح. وتلعب الحيوانات البرية دورًا مهما في بيئة الطاعون البقري كما اتضح من الانتشار السريع للعدوى بين حيوانات الصيد الأفريقية.

(١٩,٢,٤) **فترة الحضانة:** تتراوح ما بين ٣ و ٩ أيام عقب التعرض للإصابة.

الأعراض: عقب فترة الحضانة، يحدث ارتفاع في درجة حرارة الجسم (٤٠ - ٤١° م)، ويحدث بعد يوم أو اثنين إدماعًا Lacrimation وإفرازات أنفية مصلية Serous nasal discharge وبؤر نخرية Necrotic foci في حجم رأس الدبوس Pinpoint، رمادية أو بيضاء، في الخلايا الطلائية والتي تظهر على الشفاه واللثة Gums وعلى الجانب الداخلي من فتحتي الأنف Nares. وخلال يومين إلى أربعة، تزداد هذه الجروح Lesions في الحجم والعدد وتلتحم Coalesce معًا في بقع متجبنة Caseous plaques تنفصل بسهولة تاركة تآكلات حمراء مسلوخة Raw red erosions. وتصبح الإفرازات من العيون ومن الأنف متقيحة Purulent (صديدية). ويبدأ الإسهال Diarrhoea، في بعض الأحيان، كالقذائف Projectiles عقب الحمى Pyrexia بيومين إلى ٥ أيام. وفي الحالات القاسية، يكون الإسهال مائيًا تمامًا ويحتوي على دم وشرائح Shreds من الطلائيات المتقرحة (الميتة). ويحدث الموت بين ٣ – ٨ أيام عقب بداية الإسهال، والذي يكون مصحوبًا بالجفاف Dehydration وألم البطن والضعف وهبوط درجة الحرارة والرقاد Prostration. أما الحالات الأخف، فإنها قد تبدي كل هذه العلامات أو بعضها بدرجة أقل، كما تشفى نسبة قليلة من الحيوانات المصابة. وتشفى جروح الفم بسرعة في الحيوانات التي تمر بالنقاهة، لكن الشفاء التام يكون مطولا ويتعقد أحيانًا بمعاودة تنشيط Reactivation إصابات من حيوانات أولية كامنة.

وعند عمل فحص للجثة وتشريحها Necropsy، تكون الجثة جافة Dehydrated ومتسخة Soiled بالإسهال والإفرازات Discharges. وتوجد تآكلات Erosions واحتقان Congestion في كل القناة الهضمية خاصة في الفم، والحنجرة وقواعد Pillars الكرش Rumen (المعدة الأولى في المجترات) وفي الأنفحة Abomasum (المعدة الرابعة في المجترات)

وفي الأمعاء الغليظة. ويؤدي إلى احتقان الشعيرات الدموية على طول الأعراف Crests وللطيات الطويلة في مخاطيات المستقيم لظهور مميز يشبه تخطيط الحمار الوحشي "Zebra striping". وتوجد في الأعضاء الأخرى علامات أقل، فقد تحتقن الرئات والقلب. كما أن الأنسجة الليمفاوية، وهي الهدف الأول للفيروس، قد تنتفخ وتحتقن لكنها لا تتضخم.

يكون المرض في المناطق المتوطن فيها الوباء، خفيفًا، بصفة عامة، ويقتصر على العجول الصغيرة Calves والحوليات Yearling (الحيوانات التي لا تتعدى سنة). كما تتميز وبائيات الطاعون البقري خاصة في المناطق التي لم تكن حيواناتها مصابة أو مطعمة بمعدلات إماتة عالية وتحدث في مجموعات كبيرة من الحيوانات.

(١٩,٢,٥) التشخيص المعملي Laboratory Diagnosis:

تؤخذ عينات من الحيوان المريض تحت ظروف معقمة ما أمكن وتفصل عن بعضها غير مجمدة ولكن توضع على ثلج وترسل للمعمل المختص، وهذه العينات: دم متجمد لفصل المصل ودم على مضاد للتجلط Anticoagulant مثل الهيبارين Heparin، ومسحات العين والأنف وتحفظ في زجاجات بغطاء محوي، وخزعة Biobsy من العقدة الليمفاوية. وإذا أمكن أن يقتل أحد الحيوانات المريضة، تؤخذ منه عينات من العقد الليمفاوية السطحية والموجودة بالمساريقا ومن جروح الطحال والأمعاء. ويلاحظ أن العينات التي تؤخذ في طور متأخر - بعد أن يكون لديها إسهال لعدة أيام- تكون عيارية الفيروس فيها قليلة كما لا يجب أن يضاف للعينات جلسرين حيث إنه يثبط الفيروس. ويعتمد التأكيد المعملي للمرض على الشكف عن أنتيجينات الفيروس وعزل الفيروس في المزرعة الخلوية أو بيان ارتفاع عيارات الجسم المضاد في عينتين من الأمصال.

ويمكن أن يعمل تشخيص سريع عن طريق بيان وجود الأنتيجين الفيروسي في معلقات العقد الليمفاوية أو الطحال. ويتم ذلك، عادة، بوساطة اختبارات تثبيت العامل المتمم (المكمل) CF والانتشار المناعي ID. ولبيان وجود خلايا عملاقة Giant cells

مصحوبة بأجسام محتواة Eosinophilic inclusions في السيتوبلازم لها قيمة تشخيصية، ولكن يجب أن يتم تأكيدها بالوميض المناعيImmunofluorescence IF.ومع ذلك، فإن هذه الطرق ليست حساسة نسبيًا وتعطي نتائج إيجابية، فقط، في الأطوار الأولى من المرض الحاد. وأكثر الطرق التشخيصية حساسية هي عزل الفيروس في المزارع الابتدائية الخلوية لكلى الأبقار Bovine kidney cell cultures (اختصارًا، خلايا BK) والتي يسبب نمو الفيروس فيها تأثيرًا مرضيًا خلويًا CPE مميزًا من خلايا عملاقة ومحتويات سيتوبلازمية حمضية. كما أمكن، أيضا، تطويع Adapted الفيروس على النمو على مزارع خلوية إبتدائية أو خطوط مستمرة Continuous cell lines من الأغنام والماعز والخنازير والكلاب والهامستر والأرانب والقرود والإنسان وجنين الدجاج.

ويمكن أن يتم التعرف على العزلات (العترات Isolates) عن طريق معادلة الفيروس (VN)virus neutralization بالاختبارات المصلية الأخرى.

(١٩,٢,٦) المكافحة:

يمكن أن يمنع فيروس الطاعون البقري من الدخول إلى الدول الخالية من الفيروس بحظر استيراد الحيوانات الحية القابلة للإصابة من دول يوجد بها المرض. وإذا فشلت هذه السياسة، يجب ذبح الحيوانات المصابة والماشية الأخرى المخالطة. كما ان أجزاء الحيوانات المصابة والمذبوحة تشكل خطرًا إذا تناولتها الخنازير. وفي المناطق المتوطن بها الوباء Endemic، استبدل التطعيم بلقاحات الفيروس المنمى في الماعز "Caprinized" أو في الأرانب "Lapinized" بلقاحات مضعفة Attenuated تنتج في المزارع النسيجية حيث ثبت أنها عالية الكفاءة (بلورايت وتايلور Plowright & Taylor، ١٩٦٧م).

(١٩, ٣) فيروس الالتهاب الشعبي المعدي Infectious bronchitis virus (IBV):

أعطي اسم الالتهاب الشعبي المعدي IB لمرض شديد العدوى للكتاكيت الصغيرة (الصيصان) في داكوتا الشمالية بالولايات المتحدة الأمريكية عام ١٩٣١م. أما

في عام ١٩٣٧م فقد ظهر أن سبب المرض هو فيروس ليس له صلة بأي من الفيروسات المعروفة، فسمي فيروس الالتهاب الشعبي المعدي IBV. وفيما بعد، ظهر أن الفيروس لا يؤثر، فقط، على الصيصان الصغيرة فحسب ولكن على الدجاج في كل الأعمار. وبالإضافة إلى تأثير المرض على الجهاز التنفسي، فإنه يؤثر، أيضًا، على الجهاز التناسلي Reproductive وعلى الجهاز البولي Urinary في الطيور الحساسة للإصابة. ويوجد هذا الفيروس على اتساع العالم في مدى واسع من الأنواع الأنتيجينية والميل للأنسجة Tissue tropism.

(١٩,٣,١) خصائص الفيروس:

١ يتبع العائلة الفيروسية التاجية Coronaviridae.

٢ الدقائق الفيروسية تبدو مستديرة قطرها ١٠٠ نانومتر في المتوسط، مغلفة، ويبرز من الغلاف امتدادات صولجانية الشكل تعطي الفيروس منظر التاج وعدد هذه الزوائد Peplomers نحو ٢٠٠ بكل فيريون.

٣ المورث (الجين = Genome) من ح ن ر (رنا = RNA) مفرد الخيط موجب المعنى Positive sense أي أنه مُعدٍ بحد ذاته.

٤ هو النوع الممثل Prototype للعائلة على حين يضم الفيروس سلالات عديدة (أكثر من ٣٠) والنوع الممثل فيها هو ماساشوسيس ٤١ (Massachusetts 41) (M41). ولهذا، فإن الفيروس يحدث فيه، دوريًا، إما طفرات وإما معاودات ارتباط Recombinations مما يغير التركيب الأنتيجيني والقدرة الإمراضية.

(١٩,٣,٢) خصائص المرض:

يصيب الفيروس الدجاج، أساسًا، ولكن هناك دليل على أنه يصيب طائر التدرج (الحجل) Pheasant في إنجلترا وحمام السباق في أستراليا، ويتكاثر الفيروس في الخلايا الطلائية وتحت الطلائية للجهاز التنفسي وللأجهزة التناسلية والبولية.

(١٩,٣,٣) طريقة العدوى: تحدث العدوى عن طريق الجهاز التنفسي بوساطة الرذاذ وكذلك بالاتصال المباشر بين الطيور كما ينتقل الفيروس لمسافات بعيدة بالهواء والأتربة والمعدات والأشخاص العاملين بمزراع الدواجن.

فترة الحضانة: قصيرة، إذ تتراوح ما بين ١٨ - ٣٦ ساعة.

(١٩,٣,٤) الأعراض:

أهم العلامات في الكتاكيت (الصيصان) الأصغر من ٣ أسابيع هي: اللهثان Gasping المرتبط بتراكم مادة متجبنة في أنبوب الصوت Syring بالكتكوت (الصوص) والشعب الهوائية الرئيسية كما قد يحدث بعض الكحة Coughing والعطس Sneezing. كما ترى، أحيانًا، الإفرازات الأنفية، لكن خرخرة التنفس Rales (زغطة) غير شائعة في الكتاكيت الصغيرة. وقد تسبب الإفرازات المخاطية أو المتجبنة في الممر التنفسي لكثرتها انسداداً. وقد تصبح الإصابة مزمنة وتؤدي إلى التهاب كلوي Nephritis شديد خاصة في الطيور الأكبر وتسبب تغيرات مرضية في القنيات الكلوية. كما قد تحدث آفات في قناة البيض.

ومن الملاحظ أنه قد تحدث إصابات مطولة يصاحبها إفراز الفيروس لعدة شهور عن طريق فتحة المجمع (المبرز) Cloaca. كما يمكن استعادة الفيروس من البيض والمني في الدجاج المصاب تجريبيا.

ومما تجدر الإشارة إليه أن الفيروس يقلل إنتاج البيض وكثير منه مشوه أو ضعيف وتوجد خشونة وجفاف بالقشرة وزوال اللون من القشرة البنية كما يتشوه الصفار والبياض (يصبح مائيًا).

(١٩,٣,٥) التشخيص المعملي:

يكون تأكيد إصابة الدواجن بفيروس الالتهاب الشعبي المعدي IBV غالبًا، عن طريق عزل الفيروس في طور المرض الحاد و/أو عن طريق عينتي المصل في الطور

الحاد وطور النقاهة. أما في الطيور المحصنة، فإنه من الصعب عزل متباينات Variants أو حتى بيان حدوث ارتفاع معنوي في عيارية الجسم المضاد.

ويوجد الفيروس في مخاطيات القصبة الهوائية والشعب الهوائية وفي الرئات والأكياس الهوائية حتى ١٤ يومًا في الكتاكيت وحتى ٧ - ١٠ أيام في الطيور الكبيرة. ويصعب عزل الفيروس بعد الطور الحاد، أما في السلالات التي تصيب الكلى Nephropathogenic، فإنه يمكن عزل الفيروس لمدة ٢ - ٣ أسابيع.

ومن هذه الطرق:

١ -يعزل الفيروس إما بالحقن في التجويف السقائي (الألانتوي) لجنين الدجاج الذي عمره ٩ - ١٠ أيام وإما في حلقات مستزرعة من القصبة الهوائية Tracheal ring explants لكن المزارع النسيجية لا تصلح لعزل الفيروس. ويجب أن يمرر محقن الفيروس عدة مرات في جنين الدجاج حيث يسبب تقزمًا Stunting للجنين.

٢ -يمكن أن يسرع استخدام الوميض المناعي والانتشار المناعي والفحص بالمجهر الإلكتروني في التعرف على الفيروس المنمى في جنين الدجاج.

٣ -الطرق المصلية المختلفة بما فيها التعادل بالمصل وإليزا ELISA.

(١٩,٣,٦) المنع والمكافحة

١ -استخدام اللقاحات الحية المحورة قبل فترة وضع البيض واستخدام اللقاحات المثبطة في الدواجن التي تضع البيض.

٢ -تباين السلالات والأنواع المصلية يعقد المنع والمكافحة.

(١٩ ,٤) فيروس الحمى القلاعية Footand Mouth Disease Virus (FMDV)

يعرف مرض الفم والقدم Footand Mouth Disease (FMD)، أيضًا، بأنه الحمى القلاعية Aphthous fever، وبالفرنسية Fie're aphteuse، وبالأسبانية Fiebre aftosa. وهو أول مرض حيواني يعرف أن مسببه فيروس. وترجع أولى الكتابات عن هذا المرض إلى عام ١٥١٤م بإيطاليا.

وينتشر المرض في كل أنحاء العالم فيما عدا أمريكا الشمالية والوسطى وأستراليا ونيوزيلاندا وكذلك بعض الدول الأوروبية واليابان. وعندما حدث وباء في إنجلترا عام ١٩٦٧م، اضطرت لذبح ٤٥٠,٠٠٠ رأس من الماشية، كما ذبحت الملايين في وباء عام ٢٠٠١م.

ويصاب بالحمى القلاعية نحو ٤٠ نوعًا من الحيوانات مشقوقة الظلف من المستأنسة والبرية مثل الماشية والخنازير والأغنام والماعز والأيائل Deers والظباء Antilopes. كما سجل، أخيرًا، في القنافذ Hedgehogs والأفيال وغيرها إذ إنه يصيب نحو ٧٠ نوعًا تتبع ٢٠ عائلة من الثدييات. كما أن العديد من الحيوانات المعملية تكون حساسة للفيروس عند حقنها مثل الفئران الرضيعة Suckling mice وخنازير غينيا والأرانب والدجاج.

(١٩,٤,١) خصائص الفيروس

١ - فيروس الحمى القلاعية FMDV أحد فيروسات جنس أفثو Aphthovirus الذي يتبع عائلة بيكورنا (فيروسات ح ن ر الصغيرة) Picornaviridae.

٢ - الفيريون غير مغلف، إيكوزاهيدرالي، قطره ٢٢ نانومترًا ويحتوي على مورث (مجين = Genome) من ح ن ر مفرد الخيط موجب المعنى s.sRNA +.

٣ - يحتوي بروتين الغطاء على اربعة أنواع تسمى VP1, VP2, VP3, VP4 من كل ٦٠ نسخة والتي تحدد الصفات الأنتيجينية والمصلية للفيروس.

٤ - يوجد نوع واحد من الفيروس لكن يتنوع إلى ٧ أنواع مصلية Serotypes أساسية هي Asia1, SAT_3, SAT_2, SAT_1, C, O, A، أما تحت الأنواع فهي أكثر من ٧٠ (South African territories = SAT, Oise valley = O, Allemagne = A)
وتحتوي الخلايا المصابة أيضًا، على إنزيم التكاثر ريليكيز Replicase الذي يتكون ضده جسم مضاد ينتج في الحيوان عندما يتكاثر الفيروس، لهذا يسمى الجسم المضاد المرتبط بالإصابة Virus Infection Associated Antigen (VIA)، والذي يمكن الكشف عنه في مصل الحيوانات التي تكاثر فيها الفيروس. ويستفاد من ذلك

للتفريق بين تلك الحيوانات الحصينة نتيجة للإصابة وتلك التي حُصِّنت باللقاحات.

٥ - الفيروس مقاوم للتطرفات Eextremes عالية أو منخفضة الأس الهيدروجيني حيث يثبط الفيروس بالأحماض والقلويات. أما إحاطة الفيروس بالسماد أو الدم أو الفضلات فتعطيه حماية لفترة طويلة.

٦ - تمتلك أنواع فيروس الحمى القلاعية أنتيجينًا عامًا مثبتًا للعامل المتمم (المكمل)، ويتم التعرف على الأنواع وتحت الأنواع بوساطة معادلة الفيروس وبتحليل التتابع النيوكليوتيدي Nucleotide sequence analysis.

٧ - يتكاثر الفيروس في أجنة الدجاج وفي المزارع الخلوية مع إعطاء تأثيرات مرضية خلوية.

(١٩,٤,٢) خصائص المرض

(١٩,٤,٢,١) طريقة العدوى: تحدث العدوى بالرذاذ Aerosol وبالاتصال المباشر بين الحيوانات ومن الأدوات Fomites ومنتجات الحيوان أو بالرذاذ المحمول بالهواء. كما يوجد الفيروس في أنسجة الحيوانات المصابة وفي الجروح والإفرازات والإخراجات حتى من قبل ظهور الأعراض. ويمكن أن تثابر القدرة على الإصابة لفترات طويلة في مثل هذه المواد خارج جسم الحيوان. كما يمكن أن تكون الحيوانات المصابة المستأنسة والبرية حاملات Carriers لفترات طويلة حتى في إصابات غير ظاهرة. ولأن الفيروس متباين Heterogeneous لذا، فإن كثيرًا من المتباينات Variants تظهر ويكون لها القدرة على التغلب على مقاومة الحيوان للعدوى، وأيضًا، التطعيم السابق. وتعمل الخنازير كرابطة بين المنتجات الحيوانية الملوثة بالفيروس والتي تتغذى بها وبين إحداث إصابة في الحيوانات التي لديها قابلية للعدوى كما تعمل الأغنام والماعز على تضخيم Amplifying العدوى بين الماشية.

(١٩,٤,٢,٢) فترة الحضانة: قصيرة تتراوح بين يومين وثلاث، على حين يؤدي إحداث عدوى تجريبية في الماشية إلى ظهور جروح Lesions في فترة نحو ١٠-١٢ساعة عند مواضع الحقن والتي تكون عادة اللسان.

(١٩,٤,٣) الأعــراض:

يتميز المرض بنسبة إصابة Morbidity عالية وبنسبة إماته (نفوق) Mortality منخفضة. وتشمل علامات الإصابة تكوين بقاليل Blisters أو مثانات Vesicles في مخاطيات الفم واللسان والشفاه واللثة والحنجرة وأعلى سقف الحنك Palate. وتظهر لدى معظم الحيوانات المصابة حمى (٤٠ - ٤١° م) أثناء الإصابة كما قد توجد المثانات على الحزمة التاجية Coronary band وبين المخالب وعلى الحلمات خاصة في الماشية الحلوب أو إناث الخنازير Sows، وفي أحيان نادرة، على الجلد خاصة الصفن Scrotum أو الفرج Vulva. ويكون الكساح Lameness واضحًا في الحيوانات المصابة بجروح في الأقدام، والتي قد تكون العلامة الوحيدة للإصابة في الأغنام والماعز، وقد تسبب بعض السلالات نخرا Necrosis (موت للأنسجة) في عضلات القلب مما قد ينتج عنه الموت قبل أن تتكشف الجروح في الأماكن الأكثر شيوعًا لظهورها مثل الفم والقدم. كما يرجح، أن تموت الحيوانات الصغيرة أيضًا، من نخر العضلات القلبية Myocardial necrosis.

أما تجريبيًا، فإن الماشية المصابة تظهر جروحا بعد ١٠-١٢ساعة في موضع الحقن والذي يكون، عادة اللسان. كما تصبح الإصابة عامة Generalized في أماكن أخرى خلا ل٢ -٤ أيام. أما خنازير غينيا، فإنها قابلة للإصابة في وسادة القدم Foot pad وقد استخدمت لوقت طويل كحيوان تجريبي رئيسي. ولكي تنمو السلالات الفيروسية في خنازير غينيا، يلزم عمل تطويع Adaptation لها. كما أن الفئران حديثة الولادة تكون عرضة للإصابة بشدة، ويتكشف لديها كساح Paraplegia (يصيب النصف السفلي للجسم) تشنجي Spastic بعد الحقن داخل التجويف البريتوني Intraperitoneal (i.p)، ويمكن للفيروس الذي يمرر عدة مرات بها، بعد ذلك، أن يصيب الفئران الكبيرة. أما الهامستر Hamster، فإنه شديد القابلية للعدوى حتى عمر ٦٠ يومًا. ويمكن إحداث إصابة في الأرانب حديثة الولادة، أيضًا.

وترتبط الجروح المثانية Vesicular lesions بالانتفاخ والتحلل البالوني ونخر الخلايا وموتها في الطبقة الطلائية السفلى، كما يسبب الفيروس التهاب البنكرياس

Pancreatitis في خنازير غينيا. أما في الفئران المحقونة في عمر ٧ أيام، فيحدث فيها نخر واسع الانتشار في العضلات الهيكلية مع بعض النخر في العضلات القلبية.

(١٩,٤,٤) التشخيص المعملي Laboratory Diagnosis:

١ - يجب التفريق بين فيروس الحمى القلاعية وكل من فيروس التهاب الفم المثاني Vesicular Stomatitis Virus (V.S.V) وفيروس الطفح المثاني Vesicular Exanthema virus وفيروس مرض الخنازير المثاني Swine Vesicular (VSDV) Disease Virus إن كانت هذه الفيروسات منتشرة في المنطقة.

٢ - التعرف، باختبار تثبيت المكمل (العامل المتمم)، على الأنتيجينيات العامة لفيروس الحمى القلاعية في السوائل المثانية، ويستخدم إليزا، أيضًا، لتأكيد التشخيص.

٣ - التهجين الجزيئي الذي بين حديثًا أنه أكثر حساسية لعزل الفيروس في المزارع الخلوية.

٤ - التفريق بوساطة حساسية الحيوانات للإصابة كما هو مبين في الجدول رقم (١١).

الجدول رقم (١١). التفريق بين فيروس الحمى القلاعية وكل من فيروس التهاب الفم المثاني والطفح المثاني.

الحيوان وطرق الحقن	فيروس الحمى القلاعية	فيروس التهاب الفم المثاني	فيروس الطفح المثاني
الخيل (في الجلد اللسان)		+	
البقر (في العضل)	+		
خنازير غينيا (في الجلد في وسادة القدم)	+	+	+

(١٩,٤,٥) الوبائيات Epidemiology:

١ - تحدث بين حين وآخر، تفجرات وبائية Outbreaks في معظم أنحاء العالم سواء كانت متزامنة أو متفرقة.

٢ - تحتوي كل إفرازت الحيوانات المصابة وإخراجاتها على الفيروس.

٣ - يوجد الفيروس في المني.

٤ - الحيوانات التي تشفى قد تكون حاملة للفيروس خاصـة في البلعوم Pharynx لعدة أشهر.

٥ - يظل الفيروس العالق بالقش والعلف الجاف حيًا لنحو شهر.

٦ - يصيب الفيروس البشر (العاملين في المزارع والمجازر والعاملين بالأبحاث)، فتنتشر منهم العدوى، بالتالي، للحيوانات.

٧ - انتقال المرض بالاتصال المباشر وغير المباشر.

(١٩,٤,٦) المنع والمكافحة:

يجب اتباع الحجر الصحي Quarantine في الدول الخالية من الوباء مع تطهير المجازر والأماكن الملوثة. أما في المناطق المتوطن فيها الوباء، فيستخدم التحصين باللقاح المقتول. ولكي يكون اللقاح ناجحًا، يجب أن يكون من نوعية جيدة وأن يحتوي على السلالات المناسبة للمنطقة الواجب تطعيم الحيوانات بها، وأن يعطى في جرعات كافية لكل عشائر الماشية أو أغلبها. وقد عُزي فشل التطعيم، غالبًا، إما إلى ظهور متباينات أنتيجينية جديدة وإما أنها دخلت من مناطق أخرى أو حيوانات أخرى أو أن اللقاح غير مناسب.

وتستخدم في الوقت الحاضر لقاحات مثبطة محضرة في مزارع معلقة Suspension cultures، في خط خلوي من الهامستر، مثل BHK21. وقد حظر إستخدام اللقاحات الحية المحضرة بعد تمرير الفيروس الحي المضعف في الفئران المكتملة النمو أو المزارع الخلوية أو أجنة الدجاج وحل محلها اللقاح المثبط، وقد طورت لقاحات معاودة إرتباط Recombinant vaccines ولكنها لم تكن عالية الوقاية ومنها:

١ - البروتين الفيروسي VPI المنسل في البكتيريا القولونية *E. coli*.

٢ - عديدات الببتيد المصنعة Synthetic polypeptides.

٣ - منطقة الأحماض الأمينية ١٤١ - ١٦٠ من البروتين الفيروسي VPI والتي اتضح أنها مولد مناعي Immunogen لفيروس FMDV.

(٥, ١٩) فيروس مرض جيب فابريشيا المعدي Infectious Bursal Disease Virus

(١٩,٥,١) مرض جومبورو (Gomboro):

مرض يصيب، أساسًا، الدجاج، لكن لوحظت إصابات طبيعية في الدجاج الرومي Turkey وفي البط وفي طائر التدرج Pheasant. ويكون الدجاج من عمر ٢ - ٧ أيام، غالبًا، الأكثر تأثرًا بالمرض، وتظهر الأعراض أو قد لا تظهر. كما قد يكون مدمرا حيث إنه يوثر على جيب فابريشيا Bursa of Fabricius، موضع نضج الخلايا الليمفاوية ب B Lymphocytes والمسئولة عن المناعة السائلية (الخلطية) Humoral immunity ويدمرها. كما قد يؤدي إلى نسبة نفوق Mortality عالية علاوة على إنقاصه الوزن وتأثيره على المناعة ومن ثم، يجعل الطيور المصابة عرضة للإصابة بأمراض أخرى قاتلة (ويسمى، أحيانا وتجاوزا، أيدز الطيور، وهذه التسمية خاطئة ولا يجب استعمالها).

(١٩,٥,٢) خصائص الفيروس

يتبع فيروس مرض جيب فابريشيا المعدي عائلة بيرنا Birnaviridae.

١ - الفيريون قطره ٦٠ - ٦٥نانوميترًا.

٢ - غير مغلف وتماثله إيكوزاهيدرالي ورقم T = ١٣ لهذا يكون الغطاء مورويًا Skewed.

٣ - يحتوي على مورث (مجين = Genome) من قطعتين Bisegmented من ح ن ر مزدوج الخيط d.sRNA واحدة صغيرة والأخرى كبيرة وزنهما الجزيئي (٢,٢ - ٢,٥ × ١٠^٦ دالتون للصغيرة و ٢,٤ - ٢,٦ × ١٠^٦ دالتون للكبيرة).

٤ - يحتوي الفيريون على ٨,٧٪ ح ن ر و ٩١,٣٪ بروتين تقريبًا كما يحتوي على أربعة بروتينات تركيبية VPI أو VP ويرتبط تساهميًا مع المورث (Genome) و VP2 وهو المكون الرئيسي لبروتين الغطاء و VP3 وهو ببتيد داخل وينشطر إلى VP4 الموجود، أيضًا، بالفيريون.

٥ - تشفر Encodes القطعة الصغيرة من المورث للبروتين vpg المرتبط بالمورث والذي يترجم من ح ن ر مرسال وحيد التكوينmonocistronic-m RNA على حين تشفر القطعة الكبيرة للعديد من البروتينات التركيبية Structural وغير التركيبية Nonstructural المترجمة من على ح ن ر مرسال عديد التكوين Polycistronic mRNA.

٦ - يتكاثر الفيروس في السيتوبلازم وعادة لا يثبط تخليق البروتين الخلوي.

٧ - المورث سالب المعنى Negative sense لذا، فإن الفيريون يحتوي على إنزيم بلمرة ح ن ر RNA polymerase.

٨ - الفيروس شديد المقاومة للحرارة (لاحظ أن تنظيف عنابر تربية الدجاج بالماء الساخن ٦٥° م يمكن أن يطهرها من نسبة كبيرة من التلوث الفيروسي). ويقاوم، أيضًا، تأثير الأحماض والمطهرات والفورمالين كما يقاوم الجفاف.

٩ - توجد من الفيروس سلالتان: القياسية Standard رقم - ١ والسلالة رقم - ٢ وتماثل المادة الوراثية بينهما غير وثيق. كما يتميز الفيروس بوجود متباينات أنتيجينية Antigenic variants عديدة. وهذه مشكلة عند عمل اللقاحات!.

(٣, ١٩,٥) أعراض المرض:

يصيب الفيروس الدواجن في أعمار مختلفة من الصغير والكبير لكنه أكثر تأثيرًا من الناحية المرضية على الكتاكيت الصغيرة من عمر ٢ - ٧ أيام. وتظهر علامات المرض بعد فترة حضانة ٢ - ٣ أيام وتتكون، أساسًا، من الإسهال Diarrhoea والإحباط Depression - كما يتضخم جيب فابريشيا. ويحدث الاختفاء التدريجي للخلايا الليمفاوية وتكاثر للخلايا الشبكية البطانية Reticuloendothelial cells والذي يعقبه تورم داخل جريبي Intrafollicular oedema مع نخر Necrosis مركزي. وتشاهد أماكن خلوية بارزة Hyperplastic وجروح تحللية Degenerative lesions على الطحال Spleen والغدة التيموسية Thymus (مكان نضج الخلايا الليمفاوية - ت) واللوز الأعورية Caecal tonsils والكلى والكبد والعضلات.

ويؤثر الفيروس بالإحباط الواضح على وظيفة المناعة الخلطية لأنه يصيب، أساسًا، جيب فابريشيا، وهو موضع نضج الخلايا - ب المصنعة للأجسام المضادة. كما يثبط، أيضًا، المناعة الخلوية حيث إنه يؤثر على الغدة التيموسية.

(١٩,٥,٤) التشخيص والتعرف على الفيروس Diagnosis and virus identification

يمكن أن يكشف عن الفيروس بوساطة الطرق المصلبة (مثل الانتشار المناعي والوميض المناعي) مباشرة من الأنسجة المصابة وخاصة من جيب فابريشيا أو بوساطة إكثاره في أجنة الدجاج في الـ CAM (الغشاء الكوريو آلانتوي)، حيث يسبب موت الجنين خلال ٣ - ٥أيام أو في مزرعة خلوية من خلايا أجنة الدجاج الليفية (CEF)، حيث يسبب تأثيرًا مرضيًا خلويًا CPE مع أجسام محتواة حول نووية Paranuclear inclusions، كما يكون روائق Plaque. ويمكن التمييز بين نوعين مصليين Serotypes بوساطة اختبار التعادل NT وبالفصل الكهربائي لـ ح ن ر الفيروسي وللبروتين الفيروسي. وأكثر الطرق المصلية استخدامًا هي الانتشار المناعي في الآجار مع استخدام أنتيجين مستخلص من جيب فابريشيا المصاب. كما أن إليزا تعد الأكثر شيوعا في الكشف عن الفيروس والأجسام المضادة في القطيع.

(١٩,٥,٥) الوبائيات Epidemiology:

المرض منتشر في كل أنحاء العالم ولو أنه بدأ في بلدة جومبورو بالولايات المتحدة الأمريكية حيث إكتشف هناك لأول مرة عام ١٩٦٢م ويسبب نسبة إصابة عالية Morbidity ونسبة نفوق منخفضة في مناطق التوطن. وتبقى الطيور التي تشفى من المرض أو المصابة بدون أعراض لفترة طويلة مفرزة للفيروسات والتي تظل حية لفترة طويلة في العنابر وفي التراب والغبار. وقد تم عزل الفيروس من ديدان الدقيق Mealworms ومن الحلم Mites ومن البعوض.

(١٩,٥,٦) المكافحة:

١ - تنظيف العنابر بالماء الساخن (٦٥° م) والصابون بصفة دورية مع استخدام المطهرات.

٢ - التطعيم هو الوسيلة الوحيدة المتاحة للمكافحة، ويستخدم كل من اللقاح المثبط والحي المضعف مع درجات متفاوتة من النجاح. ويعطي اللقاح المثبط المستحلب في الزيت Inactivated oil emulsion vaccine للدجاج الفقاس Breeders المبدأ Primed سابقًا بلقاح الفيروس الحي استجابة عالية من الجسم المضاد ومثابرة وحماية للخلفة Progeny. ويعطى اللقاح الموجود بمعزز الزيت Oil adjuvant قبل الرقاد على البيض، أي في عمر ١٦- ١٨أسبوع.

وقد وجد بعض الباحثين أن تطعيم الكتاكيت عمر يوم واحد بلقاح IBDV مشاركة مع لقاح مرض ماريك Marek's disease يعزز التحصين ضد مرض جيب فابريشيا ويعطي مناعة قوية.

ومع ذلك، فإن التطعيم قد لا يكون فعالا نتيجة للمتباينات الكثيرة من الفيروس.

الفصل العشرون

مكافحة الأمراض الفيروسية في الإنسان والحيوان
Control of Human and Animal Viral Diseases

إن الله سبحانه وتعالى قد خلق الكون بحكمته البالغة في وجود؛ وأوجد الكائنات الحية وكل الموجودات جنبا إلى جنب؛ الضار والنافع؛ القوي والضعيف؛ العملاق والذي لا يرى. كلها تعيش، أرادت أو لم ترد؛ بعضها يسبب المرض لبعضها الآخر، وبعضها يتغذى بغيره. وأصغر الكائنات الحية، عمومًا، وهي الفيروسات، هي جزء من منظومة الكون ولكنها تفعل العجائب: تتطفل وتعيش على كل الكائنات بأساليب عديدة واستراتيجيات جهنمية فتقتل بالضربة القاضية السريعة المفاجئة. وتتسرب بطيئة لتحدث مرضًا حادًا وتترك الفريسة معافاة أو بها شيء قليل من الضرر، وقد تعاود. وقد تختفي في الجسم ساكنة لتتفجر فجأة وتعربد. وربما تعيش مع العائل؛ لا هي قادرة على القضاء عليه ولا العائل قادر على التخلص منها. لكن هذه الفيروسات المزمنة تنغص الحياة. وإن تخفت، فهي قد تسكن جسم العائل هادئة لتتفجر بعد سنوات عديدة كالمارد، أو أنها تنشط على مهل وئيد سنينًا بعد سنين وفي كلتا الحالتين، تقضي على الكائن بالسرطان أو بأمراض بطيئة تجثم على الجهاز العصبي المركزي.

ولا يقتصر خبث الفيروسات على طرق الخداع والتخفي التي تحدث بها أشكال المرض وصوره المختلفة، بل في الطرق التي تدخل بها إلى العائل المتخصصة عليه ومباشرة، إلى الأعضاء أو الأنسجة أو الخلايا المستهدفة للتكاثر.

والفيروس لا يأكل ولا يشرب، لكنه يستنزف مصادر الطاقة ومصانعها وخلاياها ويحطمها ويدمرها من أجل أن يتكاثر، فإن تزايد إلى مئات أو آلاف أو

ملايين المرات في الخلية الواحدة، فإنه يعرف طريقة للخروج ليجدد حياتة على دماء وخلايا جديدة.

وفي كل ذلك، يعرف الفيروس - بقدرة الخالق المبدع - أن رحلة الغزو ليست سهلة لا في الدخول، ولا في التكاثر ولا في الخروج والانتشار السريع. إنما عليه أن يواجه حربًا ضروسًا تبدأ منذ الفترة التي قد يوجد فيها على أهبة الاستعداد للغزو أو كونه في الفراغ والهواء!

وتبدأ المعركة التي يزيد وطيسها عندما يجد الفيروس منافذ إلى داخل العائل. والمرض إذن هو محصلة هذه المعركة الشرسة متعددة الأسلحة والذخائر والآليات من كلا الطرفين. وربما ينتصر فيها الفيروس فتظهر صورة المرض وقد ينتصر العائل. لكنه يدفع ثمنًا وجهدًا نظير ذلك فيزيد من حصونه وآلياته وفعالياته. ويظل الفيروس والعائل كل يتربص بالآخر وتستمر هذه الحلقات جيلا بعد جيل. وقد يظن المرء أن العلم قد يمكن الإنسان من القضاء على الفيروسات أو غيرها من الطفيليات. ولكن هناك تحذيرًا من كتاب جديد بعنوان "الطاعون القادم" لمؤلفته الأمريكية لوري جاريت، من أن الجراثيم ستنتقم لنفسها قريبًا من الإنسان لأن الجراثيم تزداد شراسة. وطرحت المؤلفة مرض إيبولا Ebola الدموي القاتل الذي اجتاح مدينة كيكويت بشرق زائير (الكونغو) وسبب لضحاياه نزيفا حتى الموت من جميع فتحات الجسم. ويعد إيبولا والبكتيريا السبحية آكلة لحوم البشر مثالاً للأنواع الجديدة من الفيروسات والبكتيريا التي تؤدي إلى نتائج مرعبة في الجسم البشري ولا يجدي معها أي أنواع من الأدوية المتاحة حاليًا. كما أن لهذه الكائنات القدرة على تعديل بنيتها الوراثية. (وكالة رويتر - لندن نقلاً عن الأهرام المصرية بتاريخ ١٥ سبتمبر ١٩٩٥م).

والآن، نتناول الوسائل المختلفة التي يتبعها الإنسان لمكافحة الفيروسات وهي:

١ - المنع Prevention.

٢ - آليات الدفاع المناعي Immune defence mechanisms.

٣ - الوقاية Prophylaxis or protection : التحصين السالب والتحصين النشط Passive & active immunizations.

٤ - العلاج : Treatment : المضادات الفيروسية Antivirals.

(٢٠.١) المنع Prevention

تتخذ وسائل وطرق وتشريعات، لمنع وصول الفيروسات إلى الإنسان والحيوان وغيرهما، تهدف إلى:

١ - منع انتشار الفيروس أو إنتقاله إن وجد - خارج النطاق الموجود به.

٢ - القضاء على الحشرات أو الناقلات Vectors.

٣ - التشريعات الخاصة بالحجر الصحي Quarantine ومنع سفر الأشخاص القادمين من مناطق موبوءة أو السفر إلى المناطق المتوطن بها المرض أو ربما يقتضي الأمر الحجر الصحي في المطارات والموانيء مع مراقبة من يشتبه فيهم إن سمح لهم بدخول البلاد. كذلك تقتضي بعض الدول طرد مواطني الدول الأجنبية المقيمين أو العاملين بها إذا اكتشفت لديهم أمراضًا فيروسية مثل الأيدز.

(٢٠,٢) آليات الدفاع ضد الفيروسات Defence mechanisms against viruses

تشمل آليات الدفاع ضد الفيروسات تلك الآليات التي تمنع اختراق الفيروس للجسم ومن ثم، لا يستطيع أن يشرع أو أن يؤسس إصابة في الخلايا المستهدفة كما تشمل، أيضًا، الآليات التي تدخل مع الفيروس في معركة تتفاعل نوعيًا بالخلايا ونواتج الخلايا بحيث تقفل المنافذ التي اخترق منها الفيروس أو أن تثبطه عن مواصلة تكاثره الداخل خلوي أو، إن تمكن من الخلايا، فإن هذه الدفاعات تنسف الخلية وما فيها من فيروسات وتدمرهما معا وتنظف الجسم منهما.

ولا يتوقف نضال الإنسان والحيوانات والنباتات من أجل البقاء والتكاثر ضد الأمراض التي تسببها الميكرويات بما فيها الفيروسات. ولكي تنمو الحيوانات

والنباتات المعقدة، فقد خصصت نسبة مئوية معنوية من مادتها الوراثية ومن طاقاتها من أجل تشييد دفاعات لتعادل Neutralize أو تقتل الأحياء الدقيقة.

ويملك كل من الحيوانات الفقارية والإنسان أساليب دفاعية مناعية تنقسم إلى:

١ - مناعة أصلية = فطرية غير مكتسبة Innate = natural, non acquired immunity وهي غير متخصصة Non-specific.

٢ - مناعة مكتسبة Acquired immunity وهي متخصصة.

(٢٠,٢,١) المناعة الأصلية (الطبيعية) Innate (natural) immunity

وهي فطرية وغير مكتسبة وغير متخصصة، وهي تكوينات ونواتج توجد، طبيعيًا، في الجسم وليست مقصورة على عملية الدفاع صد الميكروبات أو منعها أو قتلها ولكنها تؤدي في الغالب، وظيفة أو وظائف أخرى أساسية علاوة على كونها تمنع أو تصد أو تقتل الميكروبات عَرَضًا أولاً، ولأنها تحتوي على مادة أو تفرز منتجًا، فإنها تستطيع أن تصد الميكروب وتسد الطريق أمامه.

والمناعة الأصلية التي يولد بها الكائن ولا يؤثر في تكوينها الميكروب لا تمتلك ذاكرة ولا تفرق بين الميكروبات وغير الميكروبات فضلا عن أنها تصادف، في كل مرة، ميكروبًا تتصدى له كما لو أنها تتعرف عليه لأول مرة.

وتتضمن هذه الآليات:

(٢٠,٢,١,١) آليات الحواجز Barrier mechanisms

وهي تعوق دخول الفيروس أو تثبطه في موضعه؛ وتتضمن الطبقة القرنية للجلد والدموع واللعاب والعرق والعصارات المعدية والإفرازات المهبلية والأهداب والطبقات المخاطية. وهي إما غير منفذة وعائق أمام الفيروس وإما أنها تحتوي على أحماض أو قواعد أو إنزيمات من شأنها أن تثبط الفيروس أو تحلله. وهذه هي أولى الخطوط الدفاعية ضد الغزوات الفيروسية.

(٢٠,٢,١,٢) البلعمة Phagocytosis

بعد أن ينفذ الفيروس من حواجز الجسم، تتصدى وسائل الدفاع المناعية غير النوعية له ويكن وسيطًا فيها مختلف أنواع خلايا الدم البيضاء التي يمكنها أن تبتلع Engulf وتهضم الفيروسات الغازية في عملية تعرف بالبلعمة (الإلتقام = الإلتهام) Phagocytosis إذ إنها خلايا كانسة Scavenger cells مستعدة لأكل أية مواد غريبة وكنسها. ومع هذا، فإن العديد من هذه الخلايا يؤدي وظائف أخرى غير البلعمة ولا يقتصر وجود البلاعم على الدم، فقط، إذ يمكنها أن تمر من أوعية الدم إلى الجهاز الليمفاوي ومن ثم، ترجع للدم مرة ثانية. لهذا، ففي أي مرة يغزو الفيروس الجسم، لا بد أن يجد بلاعم في إنتظاره لتوفر تحديًا مبكرًا وفعالاً جدًا ضد العدوى، وفي الساعات الأولى المبكرة من الإصابة، يكون دور البلاعم أعظم ما يكون. وتطوريًا، فإن البلعمة تعد الطريقة الأكثر بدائية خاصة في الكائنات عديدة الخلايا. ويبدو مرجحًا أن العديد من الغزوات الفيروسية لا تستطيع أن تمر أبدًا من الخلايا المبتلعة لتسبب قلقا لخط الدفاع الثاني الأكثر تعقيدًا.

(٢٠,٢,١,٣) الخلايا القاتلة طبيعيًا (Natural killer cells (N.K. cells:

الخلايا القاتلة طبيعيًا هي نوع من خلايا الدم البيضاء التي تقتل الفيروس في الخلايا المصابة. ويعني الاسم "طبيعي" أنها تكون خلايا فعالة مباشرة بعد الإصابة ضد مدى واسع من مختلف الإصابات. وهذا يميزها عن الخلايا القاتلة التابعة للاستجابة المناعية المتخصصة، والتي يجب أن تنشط Activated عن طريق ارتباط Binding الفيروسات بمستقبلات نوعية Specific receptors على سطح الخلية. ولا تقتل الخلايا القاتلة طبيعيًا، الفيروسات الحرة، بل علاوة على ذلك، فإنها تقتل الخلايا السرطانية.

(٢٠,٢,١,٤) الإنترفيرون (الممانع – المتداخل) Interferon:

الإنترفيرون هو اسم يطلق على أنواع من البروتينات التي تنتجها الخلايا المناعية أوخلايا الجسم الأخرى عقب عملية الإصابة الفيروسية ونتيجة لها. بعدئذ،

تفرز الإنترفيرونات من الخلايا المصابة بالفيروس، فتسمح لها بأن ترتبط بسطح الخلايا السليمة المجاورة. وهذا الارتباط للإنترفيرون بالخلية السليمة يحولها إلى "حالة تضاد فيروسي" "Antiviral state". وعلى هذا، فإن إنتاج الإنترفيرون وتحرره يسمحان لإصابة خلية واحدة أن توفر الحماية للعديد من الخلايا المجاورة ضد الإصابة.

وإحدى الإشارات Signals العظمى التي تستحث الخلية المصابة على أن تصنع إنترفيرون يبدو أنه ح ن ر الفيروسي مزدوج الخيط Viral double-stranded RNA الذي يتكون خلال دورة تكاثر فيروسات ح ن ر، أو بطيٌّ Folding ح ن ر (الرسول) mRNA في حالة الفيروسات ح ن د DNA-viruses، فإن المعلومات الوراثية لجين الإنترفيرون تنطلق لإنتاج الإنترفيرون (IF). وبمجرد أن يتحرر الإنترفيرون من الخلية، فإنه يرتبط بمستقبلات البروتينات التي توجد على أغشية الخلايا المجاورة، مستحثا هذه الخلايا على عمل بروتينات تكون مسئولة مباشرة عن حالة التضاد الفيروسي. وهذه البروتينات الطبيعية الخاصة بالإنترفيرون تعمل من خلال تثبيط تصنيع البروتينات الفيروسية ومن ثم، لا يتكاثر الفيروس.

وقد أجري العديد من التجارب والمحاولات السريرية بغية التأكد من النشاطات ضد الفيروسية للإنترفيرون وكذلك في علاج السرطان، أيضًا. والخلايا القاتلة طبيعيًا لا تنتج، فقط، الإنترفيرون الخاص بها، ولكنها تتنشط به، أيضًا. كما أن فعل الإنترفيرون المضاد للسرطان قد يرجع، أيضًا، لتأثير الإنترفيرون على تنظيم خلايا الجهاز المناعي الأخرى.

وعند أول تعرض للفيروس، يكون الإنترفيرون هو آخر آليات الدفاع غير النوعية وأهمها التي تتنشط. وعقب إنتاج الإنترفيرون ببضع ساعات أو أيام تستحث آليات دفاع الجهاز المناعي.

ومن الجدير بالذكر أن الإنترفيرون المستحث بأي فيروس معين، يثبط كل الفيروسات الأخر (إذن هو غير نوعي بالنسبة للفيروس)، ولكنه نوعي للعائل الذي كان قد أنتج فيه. وهذا يعني أن الإنترفيرون الذي ينتج في الإنسان يعمل، فقط، على

الإنسان وضد كل الفيروسات، وبالمثل، فإن الإنترفيرون المنتج في الفأر يعمل، فقط، على الفأر أي أنه نوعي للعائل وليس نوعيًا للفيروس.

لهذا، فإن إنتاج الإنترفيرون الخاص بالإنسان يكن صعبًا من أجل علاج الإنسان لصعوبة إنتاجه من الإنسان، أصلا، بكميات كافية ولأنه يكون باهظ التكلفة. وشكرًا لله، ثم للهندسة الوراثية التي يسرت إدخال جينات الإنترفيرون البشرية في الآلة الوراثية للبكتيريا القولونية *Eshcerichia coli* أو خلايا الخميرة من أجل إنتاج الإنترفيرون على نطاق واسع. وفي عام ١٩٨٧م، أنتجت اليابان ما يسمى سوميفرون Somiferon والذي هو إنترفيرون نشط ضد سرطانات نخاع العظام والكلى. وفيه أخذ جين الإنترفيرون من نخاع عظام بشري وأدخل ضمن التركيبة الوراثية للبكتيريا القولونية.

(٢,٢,٠٢) المناعة المكتسبة (النوعية) Acquired (Specific) immunity

إذا أفلحت الفيروسات في اختراق خطوط الدفاع الأولى، فإنها تصدر نفيرًا في الجسم من مواضع الغزو حتى يهب الجهاز المناعي للدفاع ببسالة. تعد الاستجابة المناعية Immune response ضد الفيروسات والميكروبات الأخرى والأنتيجينات الغريبة Foreign antigens أعظم آليات الدفاع وأقواها فعالية، ومثل هذه الاستجابة المناعية هي وظيفة الجهاز المناعي Immune system الذي يتكون أساسًا من خلايا الدم البيضاء بما فيها الخلايا الليمفاوية Lymphocytes، التي، عندما تنضج Matures، تتمايز Differentiates إلى نوعين أساسيين من الخلايا المناعية Immune cells واحدة منهما تسمى الخلايا الليمفاوية - ت T - Lymphoctes وتختصر خلايا - ت T-cells، والثانية هي الخلايا الليمفاوية - ب B - Lymphocytes وتختصر خلايا - ب. أما خلايا - ت فهي خلايا ليمفاوية تعتمد في نضجها على الغدة التيموثية Thymus ومن هنا، جاءت التسمية. أما خلايا - ب، فإنها تنضج في نخاع العظام Bone marrow ومن هنا، جاءت التسمية، أيضًا. وتؤدي كل من خلايا - ب وخلايا - ت أدوار مهمة في الاستجابات المناعية وفي المناعة المكتسبة النوعية Acquired specific immunity. ويبلغ الجهاز المناعي

بخلاياه بالإضافة إلى اللاقمات (البلاعم) الكبيرة Macrophages، ذروة تقدمه وتمايزه في الحيوانات الفقارية والثدييات العليا، وعلى الأخص، الإنسان. وتستقر هذه الخلايا في أنسجة الجسم وأعضائه وسوائله لتكون جاهزة ومترقبة ومتحفزة ضد أي غزو. وإن حدث، فإن أجهزة الرادار والمراقبة تصدر إشاراتها الفورية السريعة لاستدعاء Recruitment الخلايا المناعية إلى مواقع التسلل والغزو ولفهم ذلك، دعنا نبدأ.

سنبدأ بأربعة فئران نرقمها ١، ٢، ٣، ٤. فعند حقن الفأرين رقمي ١، ٢ بمعلق من فيروس شلل الأطفال Poliovirus المقتول، فإنها سوف لا تسبب مرضًا. وبالمثل، نحقن الفأرين ٣، ٤ بتحضير من فيروس الإنفلونزا Influenza virus المقتول، فإن هذين الفأرين سوف يبقيان في صحة جيدة. وبعد أن ننتظر أسبوعين إلى ثلاثة، نحقن الفأرين رقمي ١، ٣ بفيروس شلل الأطفال الحي (يطلق على الحقن الثاني هذا أنه حقن التحدي Challenge inoculation). وبالمثل، نحقن الفأرين رقمي ٢، ٤ بمحقن تحدٍ من فيروس الإنفلونزا الحي. بعد أسبوع من حقن التحدي للفئران الأربعة، نرى أن الفأر رقم ٣ سوف يسمح بمستويات عالية من فيروس شلل الأطفال المتكاثر ويصبح مريضًا (في الواقع، إن فيروس شلل الأطفال لا يستطيع أن يتصل بخلايا الفأر ولا أن يحدث فيها إصابة أو مرضًا، لكن هذه تجربة عقلية قصدها التوضيح، فقط، نقلا عن ليفين Levine 1992). وسوف يبقى الفأرين رقم ١ ورقم ٤ بصحة جيدة، على حين أن الفأر رقم٢ سوف يعاني إنفلونزا قاسية.

وتوضح هذه التجربة ثلاث حقائق أساسية عن الجهاز المناعي:

١ - إن الجهاز المناعي يُستحث Inducible: إذ إن سابق التعرض للفيروس يكون مطلوبًا لكي يوفر حماية جيدة.

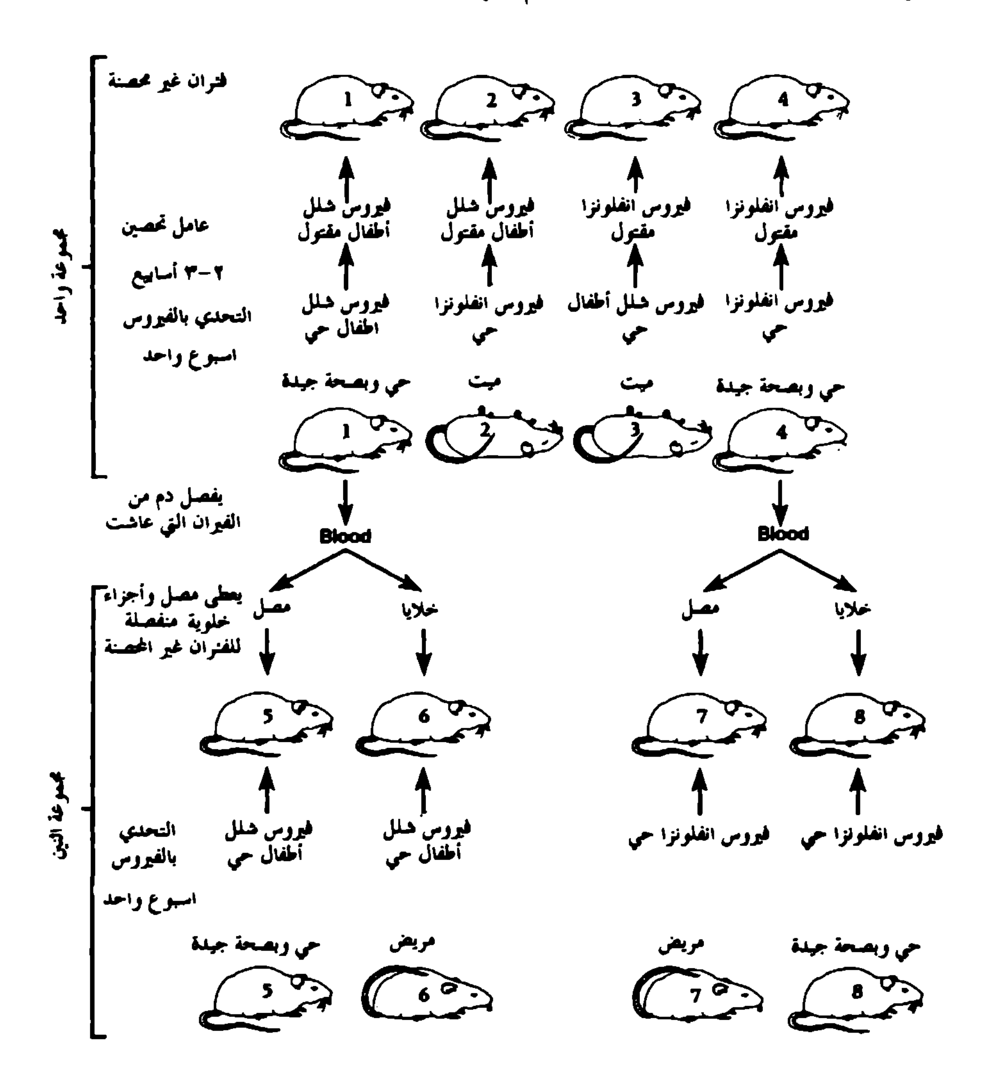
٢ - إن الجهاز المناعي نوعي Specific: فيروس الإنفلونزا لا يعطي استجابة تحمي ضد فيروس شلل الأطفال، والعكس صحيح.

٣ - إن للجهاز المناعي ذاكرة Memory: إذ إن سابق التعرض سوف يعطي حماية لشهور أو سنين.

والسؤال الذي يتبادر الآن للذهن هو: ما هذا الشيء الذي أعطى الفأر رقم ١ الحماية ضد الإصابة بفيروس شلل الأطفال؟ وما الشيء الذي أعطى الفأر رقم ٤ الحماية ضد الإصابة بفيروس الإنفلونزا؟ ولنجيب عن هذه التساؤلات، دعنا أولاً: نأخذ عينات دم من الفأرين رقمي ١ و ٤ ونفحصهما تحت المجهر، فإننا نلاحظ أن كليهما يتكونان من سائل رائق هو المصل Serum الذي يحتوي على آلاف من أنواع البروتينات ويسبح في هذا السائل العديد من أنواع الخلايا. فإذا قمنا بفصل المصل عن الخلايا أجرينا عليهما تجارب توضح لنا في أي من هذين المكونين يكمن النشاط الذي يحمي الفئران ضد معاودة الإصابة Reinfection. وأفضل ما نعمله هو حقن المصل من الفأر رقم ١ في فأر آخر وليكن رقم ٥ وأن نحقن الخلايا من الفأر رقم - ١ في فأر آخر جديد، أيضًا، نعطيه رقم -٦ بحيث يكون الفأرين ٥، ٦ لم يتعرضا من قبل لفيروس شلل الأطفال الحي (انظر الشكل - ٤٦). وسوف نلاحظ، بعد أسبوع، أن الفار رقم ٥ بصحة جيدة لكن الفأر رقم - ٦ تظهر عليه بعض علامات المرض نتيجة أنه سمح للفيروس بأن يتكاثر. وهنا تكون قد اكتملت نصف التجربة التي يستنتج منها أن المادة الواقية ضد فيروس شلل الأطفال توجد، بشكل غالب، في المصل، وأن هذا العامل الواقي، والذي يعرف بالجسم المضاد Antibody، إن هو إلا أحد بروتينات المصل الذي يسمى الجلوبيولين المناعي(Immunoglobulin (Ig .(أو جلوبيولين جاما Gamma globulin). ولو أننا كنا أحدثنا إصابة للفأرين ٥ و ٦ بفيروس الإنفلونزا، فإن الاثنين لا بد أن يكونا قد أصابتهما الإنفلونزا. من هنا، فإن الجسم المضاد، كجانب من الاستجابة المناعية، يعد نوعيًا Specific في عمله.

ويجدر الأخذ بعين الاعتبار هذه الملاحظات على التجربة السابقة:

أولا: إذا كنا نختبر فأرًا لم يكن قد تعرض مطلقًا لفيروس شلل الأطفال المقتول، فإن دم هذا الفأر سوف لا يحتوي على أية كميات من الجسم المضاد ضد فيروس شلل الأطفال والتي يمكنها أن تحمي الفأر ضد شلل الأطفال إن حدث وتعرض له. فإذا حقنا الفأر بفيروس شلل الأطفال، فإن الجسم المضاد يظهر في المصل.



الشكل رقم (٤٦). رسم تخطيطي لتجربة تبين دور الأجسام المضادة ومناعة خلية – ت في إصابات الفيروس (عن أرنولد ليفين ١٩٩٣م).

إذ إن الجسم المضاد يستحث Induce ، إستجابة ضد أي مادة غريبة. والمادة الغريبة ، وهي هنا فيروس شلل الأطفال ، يطلق عليها أنتيجين Antigen (مولد الضد =

مستضد). وعلى حين يكون الفأر رقم ١ حُمي بوساطة الأجسام المضادة استجابة للتعرض لفيروس شلل الأطفال المقتول (لاحظ أن الفأر رقم ١ كان قد حُصِّن =طُعِّم Vaccinated)، أما الفأر رقم ٥، فقد أعطي، فقط، الجسم المضاد، وليس الفيروس المقتول، ويحمي الجسم المضاد، بحد ذاته، الفأر بدون أن يكون هناك سابق تحدٍ. وهذا ما يسمى المناعة السالبة Passive immunity بمعنى، النقل السلبي للجسم المضاد. ولا تملك المناعة السالبة أية ذاكرة، وتخبو مع الوقت، أي أننا عندما نحقن جاما جلوبيولين (الجزء من المصل الذي يحتوي على الأجسام المضادة)، فإنه يوفر المناعة السالبة.

ويمكننا بعد ذلك أن نسأل: كيف يحمي الجسم المضاد ضد الإصابة بفيروس شلل الأطفال؟. ويمكننا هنا أن نستخدم معايرة روائق Plaque assay فيروس شلل الأطفال لمشاهدة ما إذا كان فيروس شلل الأطفال يتكاثر في مزرعة خلوية Tissue culture في وجود الأجسام المضادة أو عدم وجودها. فعندما نخلط فيروس شلل الأطفال مع مصل من الفأر رقم ١ أو رقم ٣، فإننا لا نستطيع ملاحظة روائق في طبق المزرعة الخلوية المحتوية على الجسم المضاد من فأر رقم ١ بالإضافة إلى فيروس شلل الأطفال، لكن عديدا من الروائق Plaques تظهر على طبق المزرعة الخلوية المحتوية على الأجسام المضادة لفيروس الإنفلونزا في وجود فيروس شلل الأطفال. إذا إنه، بمجرد التعرف Recognizing على بروتينات الغطاء Capsid الفيروسية، فإن الجسم المضاد يتحد مباشرة مع الدقيقة الفيروسية وإن هذا الارتباط الفيزيائي يوقف خطوة أو أكثر ذات أهمية في دورة تكاثر الفيروس (الاتصال Attachment أو الاختراق Penetration، أو التقشير Uncoating. وهكذا). ويمكن للجسم المضاد أن يعمل سواء في طبق يحتوي على مزرعة خلوية أو الحيوان ليمنع الفيروس من أن يتكاثر.

لكن نصف التجربة الأخرى لازالت متبقية لدينا، ونبدأ بأخذ المصل Serum وخلايا الدم المفصولين من الفأر رقم - ٤ (والذي سبق تحصينه Immunize وتحديه Challenged بفيروس إنفلونزا) ثم نحقنهما منفصلين في الفأرين رقمي ٧ و ٨. وبعد ذلك ببضعة أيام، يجرى عمل تحدٍ لهذين الفارين بفيروس الإنفلونزا الحي. نلاحظ،

بعد ذلك، أن الفأر رقم ٧ الذي أعطيناه الأجسام المضادة، فقط، يتكاثر فيه الفيروس ويظهر عليه بعض المرض (إذ إن الأجسام المضادة تعمل قليلا هنا)، على حين يبدو الفأر رقم ٨ بصحة جيدة ويظهر فيه الفيروس متكاثرًا في الرئات وفي أنسجة أخرى. وفي هذه الحالة الأخيرة، يوفر الجزء الخلوي من الدم أغلب الحماية ضد فيروس الإنفلونزا، على حين يوفر جزء الجسم المضاد الموجود بالمصل، في حالة فيروس شلل الأطفال، أغلب الوقاية.

فإذا كنا سنجزىء مكونات خلايا الدم إلى مكوناتها المختلفة. فإننا سوف نجد أن خلايا ليمفاوية صغيرة (من خلايا الدم البيضاء) تسمى خلايا - ت لها أغلب القدرة على حماية الفأر رقم ٨ من الإصابة بفيروس الإنفلونزا، وتشتق خلايا - ت اسمها لأنها تستقر في الغدة التيموسية وتنضج فيها، ويوجد في الغدة التيموسية قسمان كبيران من خلايا - ت تم التعرف عليهما وتقسيمهما بناء على البروتينات التي توجد على أغشيتهما. وتسمى بروتينات السطح هذه المحددات الخلوية Cellular determinants واختصارها سي دي (CD)، فتميز بين نوعي خلايا - ت أي سي دي ٤ - CD 4 وسي دي ٨ (CD 8)، حيث إن لهما، أيضًا، وظائف مختلفة.

فخلايا سي دي ٨ (CD 8) التي يطلق عليها، أحيانا، خلايا - ت القاتلة Killer T cells، أو المثبطة Suppressor، تتعرف على الأنتيجين الغريب للخلية المصابة ومن ثم، تقتل هذه الخلية. وخلايا ت سي دي ٨ هي تلك الخلايا التي حمت الفأر رقم ٨ من الإصابة بفيروس الإنفلونزا. فأثناء الدورة التكاثرية لفيروس الإنفلونزا، يُصنِّع الفيروس بروتينات فيروسية يعرض Displayed جزء منها على الغشاء البلازمي للخلايا المصابة بمصاحبة بروتينات خلوية سطحية متخصصة لهذا الغرض. وأثناء الإصابة، يتم التعرف على هذه الأجزاء السطحية من البروتينات الفيروسية بوساطة خلايا ت سي دي ٨ القاتلة التي تستهدف الخلايا المصابة بالفيروس وتقتلها، ومن ثم، تحد من كمية الفيروسات المصنعة. وهذا يقلل، بالتالي من مستوى الفيروس وانتشاره وينهي الإصابة سريعًا.

أما خلايا سي دي - ٤ CD 4، وهي القسم الثاني من خلايا - ت، فإنه يطلق عليها، غالبا، اسم خلايا - ت المساعدة Helper T cells. وهي تصنع عوامل بروتينية متخصصة تسمى ليمفوكاينات Lymphokines وهي إنتركيولينات Interleukins تكون مطلوبة من أجل الإنتاج الأمثل للأجسام المضادة (المنتجة بوساطة خلايا الدم البيضاء المسماة خلايا - ب) وكذلك من أجل نشاط خلايا- ت سي دي ٨ القاتلة.

بناء عليه، يوجد ذراعان للاستجابة المناعية وظيفتهما:

١ - إنتاج خلايا - ب للأجسام المضادة التي توجد في المصل وتعمل بالارتباط مع الأنتيجينات وتعادلها وبذا تبطلها.

٢ - توليد Generation خلايا - ت القاتلة (سي دي ٨)، التي تتعرف على البروتينات الغريبة على سطح الخلايا المصابة بالفيروس وتدمر هذه الخلايا. كما أن خلايا - ت المساعدة (سي دي - ٤) تكون مطلوبة من أجل تأدية وظيفة ذراعي الجهاز المناعي كليهما.

وعمومًا، فإن الأجسام المضادة تحمي ضد العديد من الفيروسات وكذلك بعض البكتيريا، حيث ترتبط بسطح الخلية، وتساعد اللاقمات (البلاعم) الكبيرة Macrophages على هضم البكتيريا. أما خلايا - ت سي دي - ٨ القاتلة فإنها تحمي ضد فيروسات معينة، وتكون وسيطة في رفض الأنسجة المزروعة من أنسجة غريبة وتؤدي دورًا أساسيًا في مكافحة الأمراض الفطرية وبعض الأمراض البكتيرية المزمنة. كما يؤدي ذراعا الاستجابة المناعية أدوارًا بطريقة مكملة لبعضهما بعضًا لحماية العائل، فالأفراد الذين فقدوا واحدًا أو كلا من ذراعي هذه الاستجابة يكونون متسامحين مناعيًا Immunocompromised، وهم - دائمًا وباستمرار - في معارك ضارية للتخلصمن التأثيرات الضارة للطفيليات وقد ينشأ مثل هذا النقص من شذوذ وراثي (طفرة في ح ن د الكروموسومي) أو من طفيل هاجم الجهاز المناعي. وفيروس نقص المناعة البشري Human immunodeficiency virus (HIV)، الذي يسبب متلازمة نقص المناعة المكتسبة الأيدز Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS) يعد مثالا

لهذا العامل، إذ إنه يتكاثر في خلايا - ت المساعدة سي دي -٤ ويهاجم كلا من ذراعي الجهاز المناعي للبشر.

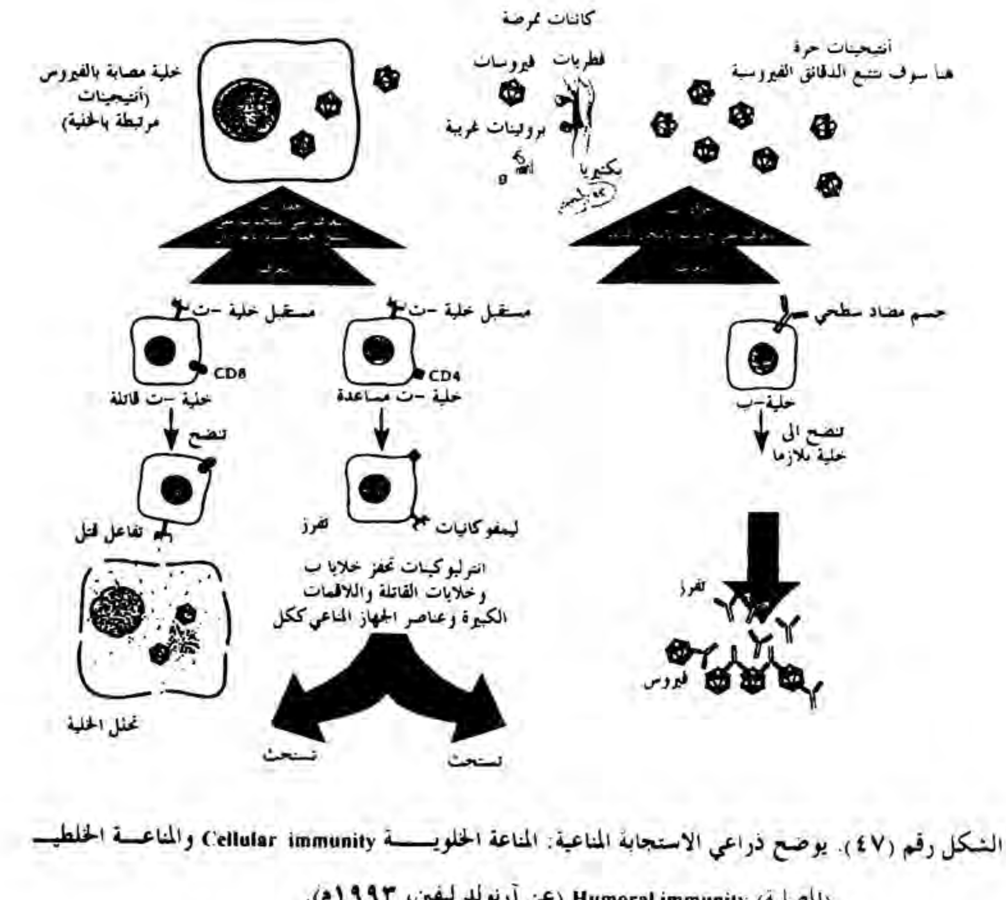
(٢٠,٣) التحصين والذاكرة Immunization and memory:

إن التعرض الطبيعي لأي فيروس أو التحصين المتعمد بلقاح Vaccine سوف يتفاعل مع خلايا - ت معينة ومع خلايا - ب من أجل إزالة الفيروس واستبعاده. وأثناء هذه التفاعلات، فإن هذه الخلايا تتنشط لتنقسم كل منها معطية نسيلة Clone من خلايا ت وخلايا - ب التي وهبت نفسها لذلك الأنتيجين. وسوف يؤدي ذلك، أيضًا، إلى إنتاج بعض خلايا الذاكرة، وهي الوحيدة التي تعد مسئولة عن ظاهرة التحصين. إذ إن خلايا الذاكرة ما هي إلا خلايا - ت وخلايا - ب أنتجتا أثناء الاستجابة المناعية ضد فيروس معين واحتفظ بها، بعد ذلك، في الجسم بعد أن يكون قد تم التغلب على العدوى التي سببت إنتاجهما. وتحمل خلايا الذاكرة على سطوحها مستقبلات يمكنها أن تتعرف على الأنتيجينات الفيروسية التي استحثت إنتاجها من السابق. ولذا، فإنه في الوقت التالي الذي يغزو فيه الفيروس الجسم، فإن كثيرًا جدًا من خلايا - ت وخلايا - ب سوف تكون في موقع الأحداث وبذا ترتبط مباشرة بالفيروس، عن طريق أنتيجيناته، ومن ثم، تشرع في استجابة مناعية ثانوية قوية Secondary potent immune response. ويؤدي هذا التفاعل القوي والسريع إلى استبعاد الفيروس بفاعلية أشد (الشكل رقم ٤٧).

(٢٠,٣,١) بعض الفيروسات تراوغ الجهاز المناعي أو قد تصيبه

: Some viruses evade the immune system and may infect it

ما إن تتأسس الإصابة بالفيروس، ومثله بكتيريا السل والجذام وبروسيللا وسالمونيللا، إلا وتهرب من آليات المناعة الطبيعية. كما أنه قد يتبع استراتيجيات خداع لحمايته من التفاعلات المناعية للعائل، بما في ذلك التداخل مع النشاط الابتلاعي ووظيفة الجسم المضاد، ومن بين ذلك الاختباء داخل الأنسجة من قبل أن تتوارد كميات كبيرة من الأجسام المضادة لتعمل ضده.



الشكل رقم (٤٧). يوضح ذراعي الاستجابة المناعية: المناعة الخلوية Cellular immunity والمناعة الخلطية (المصلية) Humoral immunity (عن آرنولد ليفين، ١٩٩٣م).

ومن بين الفيروسات التي تؤثر على وظيفة خلايا المناعة الوسيطة بالخلية: الإنفلونزا وفيروسات الالتهاب الكبدي والقوباء البسيط وفيروس مضخم الخلايا وفيروس مسبب الأيدز إتش آي في (HIV) والحصبة والنكفية والحصبة الألمانية وإبشتاين - بار.

ومن أهم استراتيجيات بعض الفيروسات إصابة خلايا الجهاز المناعي ذاتها، مثل:

١ - فيروس إتش. آي. في HIV المسبب لمرض الأيدز حيث يصيب الخلايا الليمفاوية ت و ب ووحيدات الخلايا Monocytes واللاقمات (البلاعم) الكبيرة والبلاعم الموجودة بالمخ Microglial cells حيث يحدث فيها تأثيرًا مرضيًا خلويًا CPE وفقدًا لخلايا ت موجبة سي دي -٤ ($CD4^+$) على حين تزداد نسبة T - CD 8 المثبطة. كما يؤدي لإستنزاف الخلايا المصابة وعطبها. ويستحث إنتاج السايتوكاينات Cytokines التي تنشط التعبير عن فيروس - إتش آي في.

٢ - فيروس إنزيم نازع هيدروجين اللاكتيك Lactic Dehydrogenase Virus (LDV) الذي يصيب الفئران حيث يحدث إصابة البلاعم (اللاقمات) الكبيرة التي تحمل جزيئات معقد التوافق النسيجي الأعظم قسم -٢ (MHC-II). ويسبب الفيروس استنزافا لخلايا البلاعم الكبيرة المحتوية على معقد التوافق النسيجي الأعظم قسم - ٢ حيث يؤدي هذا لإحباط وظيفة البلاعم الكبيرة المقدمة للأنتيجين Antigen presenting macrophages.

٣ - فيروسات القوباء البسيط -٢ والجدري وفيروس أدنو - ١٢ وفيروس مضخم الخلايا: وهي تصيب خلايا عديدة تحمل أنتيجينات معقد التوافق النسيجي الأعظم قسم - ١ (MHC-I). (كل الخلايا ذات الأنوية)، وتؤدي هذه الفيروسات لتقليل التعبير عن جزيئات معقد التوافق النسيجي الأعظم قسم - ١ على سطح الخلايا المصابة، وبالتالي، التداخل مع نشاط خلايا ت موجبة سي دي - ٨ ($CD8^+$).

٤ - فيروس إبشتاين - بار: وهو يصيب الخلايا الليمفاوية - ب التي تحمل مستقبل CD2. وتؤدي الإصابة إلى التنشيط متعدد النسائل Polyclonal لخلايا - ب. ويسبب الفيروس إنتاج جزيئات تحاكي إنترليوكين - ١٠ التي تسبب، بالتالي، تثبيط إنتاج إنترفيرون جاما.

٥ - فيروس الالتهاب الكبدي - ب: ويصيب الخلايا الكبدية حيث يؤدي إلى تحرير الأنتيجينات الفيروسية، وإلى استحثاث التحمل Tolerance في خلايا - ب مع فشل إنتاج الأجسام المضادة ضد الأنتيجين الفيروسي السطحي HBs Ag. كما يثبط إنتاج إنترفيرون ألفا ويقفل استجابة الخلايا المصابة ضد الإنترفيرون.

٦ - فيروس محلل الخلايا الليمفاوية المسبب لالتهاب الأغشية السحائية Lymphocytic Choriomeningitis Virus (LCMV) الذي يصيب الخلايا الليمفاوية - ت ويؤدي إلى الاستنزاف النسيلي لخلايا - ت مع فقد الاستجابة ضد الفيروس.

وتشمل طرق خداع الفيروس استراتيجيات تؤثر على كفاءة المناعة الوسيطة - بالجسم المضاد:

١ - ففي الإصابات الفيروسية، خاصة تلك التي تسببها الفيروسات المعوية Enteroviruses، تتكرر الإصابات وتكون قاسية خاصة في حالات المناعة السائلية (الخلطية) المعطوبة Impaired كتلك التي تكون في حالات النقص المناعي الوراثي. ففي مرض براتون Bruton disease (وهو نقص مناعي ابتدائي موروث مرتبط بكروموزوم إكس متنح ويوجد في الصبيان ويكون من نتيجة ذلك عدم القدرة على تخليق الجلوبيولينات المناعية، أي الأجسام المضادة) قد يتكشف بعد التطعيم، وكذلك قد يظهر الالتهاب المخي السحائي Meningoencephalitis بعد الإصابة بفيروسات إيكو Echo وكوكساكي Coxsackie.

٢ - يكون للفيروس في عديد من الحالات، القدرة على الهرب من آليات الوقاية للعائل ويظل قادرًا على إحداث الإصابة، حتى وإن تعقد Complexed مع الجسم المضاد مثل فيروس حمى الدنجي Dengue fever virus عند معاودة الإصابة بعد إصابة تم الشفاء منها، وعند التطعيم ضد فيروس الدمج الخلوي التنفسي RSV، فإن الفيروس يحدث مرضًا أشد عما لو كان بدون تطعيم.

٣ - بعض الفيروسات تظل كامنة Latent، مثل مجموعة فيروسات القوباء، كما أنه يحدث لها معاودة تنشيط Reactivation على الرغم من وجود الجسم المضاد الدوار، وذلك بمرور الفيروس من خلية لخلية دون أن يمر بمجرى الدم كالقوبائيات وغيرها.

٤ - تعتمد كفاءة الأجسام المضادة في منع الإصابة بالفيروس على ما إذا كانت كمية الأجسام المضادة تكفي لمنع الفيروس المار في مجرى الدم Blood stream من الوصول إلى الخلية أو العضو الهدف أم لا. مثال ذلك فيروس شلل الأطفال Poliovirus، الذي يعبر الجدار المعوي. ويدخل إلى مجرى الدم ويمر إلى الحبل الشوكي، فالمخ حيث يتكاثر. ولو وجدت كمية قليلة من الأجسام المضادة لتمكنت من معادلة الفيروس من قبل أن يصل إلى الخلايا الهدف في الجهاز العصبي. ويسلك عدد من الفيروسات الأخرى نفس الطريقة ويمر إلى مجرى الدم في طريقه إلى العضو الهدف، ومن أمثلة ذلك فيروسات الحصبة والنكفية والحصبة الألمانية والجدري المائي (العنقز). وتتميز الأمراض التي تسببها هذه الفيروسات بفترة حضانة مطولة Prolonged. وقد أُخذت ميزة من هذه الصفة في حالة فيروس السعار، إذ يستغرق وصوله من موضع العضة إلى الجهاز العصبي وقتًا طويلا يكفي للتطعيم من استحثاث أجسام مضادة معادلة تثبطه قبل الوصول إلى الجهاز العصبي.

وعلى النقيض من ذلك، توجد فيروسات أخرى تتميز أمراضها بفترة حضانة قصيرة مثل فيروسات الإنفلونزا والبرد العادي Common colds، ولا تمر هذه

الفيروسات في مجرى الدم، كما أن العضو الهدف لها هو موضع دخولها في الجسم، الأغشية المخاطية التنفسية. وفي هذا النوع من الإصابة، فإن المستوى العالي من الأجسام المضادة في الدم، سوف يكون غير فعال نسبيًا ضد هذه الفيروسات مقارنة بالفيروسات المنقولة بالدم Bloodborne. ولكي تعمل مثل هذه الأجسام المضادة، يجب أن تعبر الأغشية المخاطية إلى الإفرازات التنفسية، ولكن لا يسمح ذلك بمرور الأجسام المضادة IgM و IgG على حين أن الأجسام المضادة من النوع IgA، والتي تفرز في المخاطيات تكون أكثر فعالية في معادلة هذه الفيروسات. ومن هنا، فخلاصة ذلك أن طرق التحصين Immunization التقليدية الهادفة لإنتاج مستويات عالية من الأجسام المضادة في الدم، من المرجح ألا تكون فعالة ضد الفيروسات التي تهاجم الأغشية المخاطية، وأنه يجب أن يحفز التحصين إنتاج IgA موضعيًا على الأغشية المخاطية ذاتها. مثال ذلك إعطاء لقاح الإنفلونزا الحي المضعف داخل الأنف Intranasally والذي يستخدم الآن بكثرة. ومثال آخر هو لقاح شلل الأطفال الحي المضعف الذي يعطى بالفم.

وتؤثر بعض الفيروسات على المناعة الوسيطة - بالخلية مثل:

١ - الأطفال المصابين خلقيًا (ولاديًا) Congenitally بالحصبة الألمانية Rubella اتضح أنهم يفرزون الفيروس حتى ١٨ شهرًا من العمر. وقد تبين أن هؤلاء الأطفال يمتلكون مستويات عالية من الأجسام المضادة IgM ضد الحصبة الألمانية، ولكنها لا تعطي تحملاً بسبب أن المناعة الوسيطة بالخلية تكون منقوصة نتيجة لإحباط تفاعلية الخلايا الليمفاوية Depression of lymphocyte reactivity والتي تشاهد مع بعض الفيروسات مثل الحصبة الألمانية، والقوباء ومرض نيوكاسل والالتهاب الكبدي.

٢ - لبعض الفيروسات المعينة القدرة على التكاثر في اللاقمات (البلاعم) الكبيرة Macrophages، مثل الفيروسات المنقولة بالمفصليات Arboviruses وفيروس الالتهاب الكبدي في الفئران Murine hepatitis virus وفيروس نازع هيدروجين حامض اللاكتيك وفيروس القوباء البسيط.

٣ - تتكاثر فيروسات تحلل الخلايا الليمفاوية المسببة لالتهاب الأغشية السحائية Lymphocytic virus choriomeningitis وفيروسات اللوكيميا Leukaemia virus وفيروس إبشتاين - بار Epstein-Barr virus لأنها تتكاثر في الخلايا الليمفاوية.

ففي دراسات أجريت على فيروس لوكيميا الفئران، اتضح أن الفيروس يثبط في الفئران نشاط الجهاز المناعي سواء المناعة السائلية (الخلطية)، أو المناعة الوسيطة بالخلايا. وفي فيروس لوكيميا فريند Friend leukemia virus في الفئران، يحدث تثبيط انتخابي لقسم معين من الجلوبيولينات المناعية هو IgG مما يقترح بأن التأثير يحدث على عترة معينة من الخلايا الليمفاوية - ب.

الفصل الحادي والعشرون

الوقاية من الأمراض الفيروسية باللقاحات
Protection against Viral Diseases by Vaccines

(٢١,١) التحصين النشط Active immunization:

يُعنى الإنسان، أساسًا، بمكافحة الأمراض الفيروسية لحماية نفسه وحيواناته ونباتاته ضد أي فاقد اقتصادي قد تسببه الفيروسات.

إن أهم الأساليب الفعالة لمنع الأمراض الفيروسية هو عن طريق الوقاية منها Prophylaxis. ونعني بالوقاية، هنا، أن يدافع العائل ضد الغزو الفيروسي المستحث ومنعه من تأسيس مرض. لقد مارس المصريون والفارسيون والصينيون القدماء طرق التحصين Immunization من خلال التطعيم Vaccination (Vacca تعني بقرة باللاتينية). كما لاحظوا أن الأشخاص الذين طعموا Vaccinated بفيروس جدري البقر Cowpox virus من بثرات ظهرت على الأبقار، تمت حمايتهم Protected ضد الإصابة بجدري الإنسان Smallpox. وفي نفس الوقت، فإن الأشخاص الذين نجوا من الموت بجدري الإنسان بعد إصابتهم، كانوا يسهرون على المرضى ويرعونهم أثناء الوبائيات Epidemics.

ولاحظ الأطباء عبر العصور، أيضًا، هذه الملاحظات؛ أي أن الناس الذين يكونون قد أصيبوا بمرض معدٍ معين، نادرًا ما يصابون به مرة ثانية، وأنه، في العديد من الحالات، ينتج عن سابق التعرض لعامل معدٍ وقايةٌ مدى الحياة. وكما نعرف، الآن، فإن هذه هي أهم علامات الجهاز المناعي وهي: الاستحثاث Inducibility والنوعية Specificity والذاكرة Memory.

ويعمل جهازنا المناعي بطريقتين: فهو يساعد على الشفاء من الإصابة الفيروسية، وبعد ذلك، يحمينا ضد معاودة الإصابة بنفس الفيروس.

(٢١,١,١) اللقاحات (الطعوم) Vaccines:

تشبه اللقاحات الفيروسية غيرها من اللقاحات الأخرى، فهي مكونة، أساسًا، من أنتيجينات الفيروس Viral antigens. وتوجد هذه الأنتيجينات، أساسًا، في الأغطية Capsids والزوائد أو الأشواك Appendages or spikes وفي التركيبات السطحية الأخرى من الدقائق الفيروسية أو الفيريونات.

وتعطى تحضيرات اللقاحات الفيروسية إما داخل الجلد Intrademally، وإما تحت الجلد Subcutaneously، أو في الأنف Intranasally، أو في العضل Intramuscularly، أو في الوريد Intravenously، أو بالفم Peros وعند إعطاء الأنتيجينات الفيروسية، يتفاعل معها الجسم بجهازه المناعي، لأنها غريبة عنه، وبذلك تتكون استجابة مناعية نوعية. وسوف يتكشف عن الاستجابة المناعية الناتجة عن التفاعل بين الأنتيجينيات الفيروسية والجهاز المناعي مناعة ضد الأنتيجينيات، وبالتالي؛ فإن أي غزو لاحق من الفيروس الذي أُعد منه تحضير اللقاح أصلاً، ينتج عن ذلك مناعة مكتسبة Acquired immunity بما فيها المناعة السائلية (الخلطية) Humoral بمكوناتها المتخصصة والتي تضاد الإصابة الفيروسية. وهذه العوامل الخلطية هي الجلوبيولينات المناعية Ig Immunoglobulins (الأجسام المضادة Antibodies) والإنترفيرون والتي يستحث تصنيعها بوساطة خلايا متخصصة من الجهاز المناعي. وأهم هذه الخلايا هي الخلايا الليمفاوية ب التي تصنع الأجسام المضّادة، وتشارك في بعض الحالات الخلايا الليمفاوية - ت واللاقمات (البلاعم) الكبيرة، كما تتعاون مع خلايا - ب من أجل التعرف Recognition على الفيروس تعرفًا أكثر فعالية وتصنيع للأجسام المضادة النوعية.

وقد تكون اللقاحات الفيروسية: فيروسًا حيًا Live virus أو فيروسًا مقتولاً Killed virus أو تحضيرات من أنتيجينيات الفيروس المنقاة Pruified viral antigens. ومع ذلك، فإن أي لقاح لا بد أن تتحق فيه الإحتياجات اللازمة.

(٢١,١,٢) الاحتياجات اللازمة لفعالية اللقاح الفيروسي

Requirements for the efficacy of viral vaccine

(٢١,١,٢,١) ألا يسبب مرضًا:

ويعني هذا أن اللقاح يجب أن يتحمله Tolerated الجسم دون أن يتكشف مرضًا قاسيًا. كما يجب، أيضًا، أن يسبب أقل ما يمكن من عدم الراحة. إن العملية التي تنتج بها سلالة فيروسية معينة تسبب قدرًا ضئيلا من المرض تسمى الإضعاف أو التوهين Attenuation. أما الفيروس الذي يسبب المرض، فإنه يعرف بالسلالة الشرسة Virulent strain ، كما يطلق على السلالة الموهنة Attenuated أنها غير شرسة Avirulent.

ويمكن الحصول على السلالة الموهنة أو غير الشرسة بوساطة واحدة من الطرق التالية:

أ - انتخاب نسيلة Clone أو سلالة متباينة Variant يمكن أن توجد طبيعيًا وذلك عن طريق إكثار السلالة الشرسة (السلالة البرية Wild strain) إما بتغيير العائل الحيواني، وإما المزرعة الخلوية، أو حتى بحقنها في أجنة الدجاج.

ب - معاودة الارتباط الوراثي Genetic recombination بين السلالة البرية وسلالات المعمل.

جـ - إكثار الفيروس عند درجة حرارة تحت فسيولوجية (بمعنى: تتكون طفرة حساسة للحرارة Temperature sensitive mutant).

د - استخدام سلالات من عوائل مختلفة تكون ذات قرابة أنتيجينية مع السلالة الشرسة، لكنها تسبب مرضًا في عائل آخر. ففي عام ١٧٨٩م، استخدم إدوارد جينر Edward Jenner فيروس جدري البقر لتطعيم البشر ضد جدري الإنسان.

وبالطبع، فإن الفيروسات المقتولة التي تستخدم لقاحات تكون مأمونة جدًا ولا تسبب مرضًا. ومن مزايا تحضيرات اللقاحات المقتولة أن وجود أي فيروس آخر مجهول بها سوف يقتل، أيضًا، في هذه العملية ولا يكون منه خطر. ومع ذلك، فإن من عيوبها الكبيرة أن الفيروس المقتول لا يتكاثر ولهذا فإن الجرعة المحصنة Immunizing dose يجب أن تحتوي على كثير من الفيروس عما تحتويه في حالة اللقاحات الحية.

(٢١,١,٢,٢) استحثاث مناعة مكتسبة طويلة الأمد

Stimulating a long lasting acquired immunity

إن الوقاية طويلة الأمد المستحثة (المناعة) والتي تعقب الإصابة الجهازية بالفيروسات مثل الجدري والحمى الصفراء وشلل الأطفال والحصبة تعد أساسا، وظيفة للمناعة السائلية (الخلطية) (المبنية على الجسم المضاد) والتي تعتمد على الجلوبيولين المناعي ج (IgG)، لكن المناعة الخلوية تؤدي، أيضًا، جزءًا. وقد طورت لقاحات فعالة ضد العديد من الأمراض الفيروسية الجهازية للإنسان ولحيواناته المستأنسة.

ومن ناحية أخرى، فإن المناعة عقب الإصابة السطحية Superficial للأغشية المخاطية التنفسية تكون قصيرة الأمد نسبيًا، وتعتمد على الجلوبيولين المناعي - أ (IgA) المصنع بوساطة الخلايا الليمفية الموجودة بالطلائيات والتي تفرز في المخاط. وبسبب أن المناعة التي تعقب عدوى طبيعية تكون قصيرة الأمد، فإن أغلب الدراسات على التطعيم ضد الفيروسات التنفسية كانت تظهر لفترات قصيرة، في الواقع، بحيث لا تتعدى بضعة أسابيع. ويعزى بعض الوقاية، على الأقل، لـ IgA، وأيضًا، للتأثير غير النوعي للإنترفيرون (والذي يميل لأن يستحث بوساطة فيروس شرس وليس بفيروسات غير شرسة). أو ربما يعود للأجسام المضادة المتفاعلة تقاطعيًا Cross-reacting التي تستدعى نتيجة للاستجابة الثانوية ضد لقاح متباين Heterologous vaccine.

ومن المعروف - الآن - جيدًا أن الفيروسات التي تسبب أمراضًا فيروسية عامة (جهازية) تكون وحيدة النوع Monotypic، على حين يوجد تباين أنتيجيني بين الفيروسات التي تسبب أمراضًا موضعية للأغشية المخاطية السطحية. ومع ذلك، فإن إصابات القناة التنفسية السفلى القاسية في الأطفال الصغار تميل لأن تحدث من فيروسات أنواعها المصلية Serotypes ضيقة المدى نسبيًا: فواحد في فيروس الدمج الخلوي التنفسي Respiratory syncytial وأربعة فيروسات بارا إنفلونزا وفيروس إنفلونزا واحد وثلاثة فيروسات أدنو.

ويجب أن يؤخذ التغيير الأنتيجيني Antigenic shift والتحوير الأنتيجيني Antigenic drift في الاعتبار عند تجهيز لقاح فعال. وفي بعض الأحيان، يمكن أن

تتكشف ضد اللقاح مناعة غير كافية أو غير فعالة أو قصيرة الأمد، عندئذ، فإن الفيروس الذي تم التطعيم ضده يكون ما يزال قادرًا على التكاثر. وهذا ما يحدث مع فيروس الحمى القلاعية Foot- and- Mouth Disease Virus (FMDV) في الماشية كما أن المناعة الجزئية توفر ضغطًا انتخابيًا Selective pressure، بحيث يكون في صالح تكاثر متباينات أنتيجينية Antigenic variants جديدة من الفيروس والتي تحل محل السلالة التي كانت موجودة سابقًا Pre-existing بمرور الوقت. وحتى الحيوانات التي يكون لديها مناعة فعالة ضد السلالة الأصلية، سوف لن تكون محمية من السلالة الجديدة.

(٢١,١,٢,٣) يجب أن يكون مأمونًا Should be safe:

ونقصد بالأمان، بالإضافة للوقاية، أن اللقاح يجب ألا يسبب اضطرابًا في أي من المسارات الفسيولوجية وألا يتكشف عنه مرض. فإن معظم الأخطار ترتبط باللقاحات الحية وهذه هي:

أ - عدم الإضعاف الكافي Insufficient attenuation لسلالة اللقاح يؤدي لحدوث المرض، وأحيانًا، لإنتشاره بين المخالطين Contacts، و / أو الطفرة الراجعة Back mutation إلى الشراسة العالية.

ب - وجود فيروسات عرضية Advintitious في الخلايا المستخدمة في تنمية فيروسات اللقاح. فالآن، يحضر لقاح شلل الأطفال Poliomyelitis في خطوط خلوية Cell lines بشرية حلت محل خلايا فيرو Vero cells (خط خلوي من كلى القرود)، بسبب وجود مخاطر من فيروسات مولدة للسرطان Oncogenic وفيروسات بطيئة Slow viruses في خلايا القرود والتي قد تسبب إصابة قاسية للأشخاص المطعمين Vaccinated. علاوة على ذلك، فإن الأطفال المحصنين بفيروس الحصبة Measles، أو فيروس الدمج التنفسي Respiratory syncytial virus المثبطين Inactivated، قد يتكشف عنهما، عند تعرضهما لعدوى طبيعية أو لقاح حي، مرض أشد خطورة مما قد يحدث للأشخاص غير المطَعَّمين ويتضمن ذلك تفاعلات حساسية Allergy وربو Asthma وصدمة فرط الحساسية Hypersensitivity shock. وقد يتكشف هذا

من تفاعلات بين الجلوبيولين المناعي هـ (IgE) وبين الأنتيجينات المعطاة للمرة الثانية لنفس الفيروس.

(٢١,١,٢,٤) يجب أن يكون ثابتًا وراثيًا Should be genetically stable

يجب ألا ينقلب اللقاح الفيروسي الموهن Attenuated إلى الشراسة Virulence عندما يتكاثر في الأفراد المحصنين. إذ إن اللقاحات التي تصنع بقتل السلالات الشرسة من الفيروسات يجب ألا تستعيد قدرتها على الإصابة في الشخص المحصن عن طريق التفاعل مع فيروسات توجد في الطبيعة.

(٢١,١,٢,٥) لا يتأثر بالتداخل Does not be affected by interference

إذا ما أعطي لقاح شلل الأطفال الحي الذي يعطى بالفم، فإن إصابة المعي بفيروس معوي للشخص المطعم قد يمنع (يتداخل مع) تأسيس السلالة الفيروسية عن طريق التداخل. ومع ذلك فإن التداخل بين الأنواع المصلية Serotypes الثلاث لشلل الأطفال التي توجد في لقاح شلل الأطفال ذاته لا يتم، ولكن ربما تتداخل سلالات اللقاح نفسها مع دوران Circulation السلالات الشرسة لفيروس شلل الأطفال، إذا ما أعطي اللقاح أثناء حدوث وباء.

ولا يحدث التداخل بين الفيروسات الحية، عادة في اللقاح المتعدد الفيروسات Polyvalent vaccine عقب الإعطاء بالحقن، ربما بسبب أن الفيروسات تتوزع بسرعة في كامل الجسم. فلقاحات الحصبة والغدة النكفية والحصبة الألمانية الموجودة باللقاح الثلاثي (Triple or MMR vaccine)، على سبيل المثال، تعطي استجابات جيدة من الأجسام المضادة لكل الفيروسات الثلاث. ومع ذلك، فإن محاولة اللقاح الحي المتعدد للحصبة والحمى الصفراء وجدري الإنسان لم تفلح.

(٢١,١,٢,٦) أن يكون ثابتًا حراريًا Should be heat stable

تصنع تحضيرات اللقاحات في شكل جاف أو رطب Wet، ويكون اللقاح الرطب المحضر في محلول حافظ عرضة للتلف الحراري Thermolabile عادة، وفي كثير من

الحالات، يفقد فعاليته عند الشحن وبالتخزين لفترة طويلة. أما اللقاحات الجافة في شكل مجفف Lyophilized في أمبولات Ampules، فإنها تكون أكثر ثباتًا للحرارة ويمكن تخزينها بالتبريد لوقت أطول كما أن بعض المواد التي تضاف للقاح تزيد من عمر التخزين.

(٢١,١,٢,٧) الجلوبيولينات المناعية النوعية للفيروس

Virus specific immunoglobulins

لقد أدرك العلماء من زمن طويل أن استجابات الجسم المضاد المستحثة بالفيروس تعد عنصرًا أساسيًا في منع الأمراض الفيروسية ومكافحتها.

وفي بعض الحالات، يكون من الواضح أنه يمكن للجسم المضاد المعادل Neutralizing antibody أن يمنع المرض في مثل حالات شلل الأطفال والحصبة والإنفلونزا. ويحتمل، أيضًا، أن تؤدي الأجسام المضادة دورًا مهما في تضييق انتشار الفيروس من المواقع الموضعية، ولكنها قد لا تكون قادرة على استبعاد العدوى التي ترسخت في الجسم فعلا، أو في منع معاودة تنشيط Reactivation الإصابات الكامنة Latent infections، مثل التهاب الجلد بالقوباء البسيط Herpes simplex، أو الإصابات المعاودة من فيروس فاريسيللا - زوستر Varicella - Zoster.

ويستجيب الجهاز المناعي للإصابات الفيروسية وللتحصين بإنتاج أجسام مضادة من مختلف النوعيات المتخصصة ضد الفيروس وكذلك من مختلف أقسام الجلوبيولينات المناعية Ig classes. إذ أن الأجسام المضادة م (IgM) تبدأ مبكرًا في الظهور وتكون مؤقتة، وتساعد هذه الحقيقة في تأكيد أن الإصابة الفيروسية قد تمت في وقت حديث، ومثال ذلك الإصابات الناشئة عن فيروس مضخم الخلايا Cytomegalovirus وفيروس الحصبة أثناء الحمل. وبصفة عامة، فإن الأجسام المضادة المتكونة ضد العديد من التكوينات الفوقية Epitopes للفيروس الواحد والدور الواقي لهذه الأجسام المضادة عديدة النسائل Polyclonal antibodies تعد، بصفة عامة، ذات علاقة بمحتواها من الجسم المضاد وحيدة النسيلة Monoclonal antibodies ضد تكوين فوقي واحد Single epitope للأنتيجين الفيروسي.

ويلزم الأشـخاص الذيـن يكـون جـهازهم المنـاعي معطوبًا أن يعطـوا ، بإلحـاح وعلى وجه السرعة ، العلاج المنـاعي Immunotherapy المكـون مـن أجسـام مضـادة ضـد الإصابة الفيروسية ، ولكنها جاهزة ومستخلصة من دماء البشر ، غالبًا ، وهذا ما يسمى بالتحصين السالب. Passive immunization.

(٢١,١,٣) مداخل جديدة لتطوير اللقاح New approaches for vaccine development

(٢١,١,٣,١) تقنية التنسيل الجزيئي Molecular cloning technique:

وقد طورت هـذه التقنيـة حديثًا حيث استرعت الكثير مـن الاهتمـام نتيجـة لأهميتـها البالغـة : فـإذا مـا غُـرس Inserted مـورث (مجـين Genome) الفـيروس أو نسخـة من ح ن د (دنا DNA) في حالـة الفـيروس الـذي مورثـه مـن ح ن ر (رنـا = RNA) ، في بلازميد بكتيري مناسب (وهو جزيء صغير من ح ن د مزدوج الخيط d.s-DNA ذاتي التكاثر) ثم نُسِّل Cloned في البكتيريا القولونية *Eschericia coli* ، فإن تتابع ح ن د الفيروسي يمكن أن ينتج بكميات تكفي للتحليلات التفصيليـة ولإنتـاج منتجات الجين الفيروسي فيما بعد. وسـوف يظهر التحليـل النيوكليوتيـدي ، عـادة ، التنظيـم الوراثي للفيروس ويسمح التعرف على الجينـات الـتي تشـفر Code لكـل أنتيجـين معـين بعدئذ ، يكون من الممكـن عزل الجـين الخـاص بـأي أنتيجـين معـين ثـم يُشبك مـع نظـم مختلفة توفر التعبير المحكوم Controled expression ، وتنتـج أنتيجينـات علـى هـذا النحـو. ولاستخدام تقنية ح ن د معاود الارتباط Recombinant DNA tecnology هـذه ميزتـان : أولهما السلامة ، فهذه التقنيـات تمتلـك إمكانيـة إنتـاج لقاحـات ضـد فيروسـات شـديدة الإمراض ، مثـل فيروسـات الحمـى النزفيـة الأفريقيـة (إيبـولا ومـاربورج) ، حيـث إن استخدام جين معزول يعني استحالة توليد عامل مُعْدٍ. هذا فضلاً عن أن مكـون اللقـاح عالي النقاء مع استبعاد وجود أية عوامل ملوثة. والميزة الثانية هي أن تكلفة المنتج الأولى سوف تكون أقل منها للقاح المماثل المصنوع بالطرق التقليدية ، كما أن معدل الإنتـاج أعلى ، لكن هناك مشـكلة محتملـة وهـي أن الأنتيجـين المنتـج بـهذه الطريقـة يختلـف عـن نظيره الطبيعي في بنيته وثباته وفعاليته المناعية.

(٢١,١,٣,٢) تعزيز تحسين الاستجابات المناعية للقاحات (المعززات Adjuvants)

Enhancement of the immune response against the vaccines

إن تحضير اللقاحات الفيروسية بتنقية وتمزيق الفيروسات أو منتجات المعالجة الوراثية أو بتخليق الببتيدات المولدة للمناعة، سوف يستلزم استحداث طرق لتحسين المناعة. وقد نجحت بحوث المواد المعززة Adjuvants، نوعًا ما في إنتاج أجسام مضادة وذاكرة مناعية في الدورة الدموية للقاحات العادية. وقد وجد أن هذه العوامل المعززة المحسنة للاستجابة المناعية تتركز، في الأساس، على خلايا - ب وليس على خلايا - ت.

ومعظم المواد المساعدة معقدة ولها أنشطة متعددة يحتمل ألا تكون جميعها مرتبطة بفعلها المساعد، لكن ببعض الكيميائيات البسيطة مثل ثنائي ببتيد ميورامايل Muramyl dipeptides.

وتقوم هذه المواد المعززة بتحسين القدرة الأنتيجينية Antigenicity للقاح وذلك إما بتحوير الأنتيجين ذاته وإما تحوير إستجابات العائل. كما أن هناك تأثيرًا آخر للمعزز Adjuvant وهو تمكين الأنتيجين من أن يقدم على شكل تجمعات Aggregates بحيث من المرجح ألا تستحث توليد تحمل Tolerance ضدها.

وبعض الأنتيجينات، مثل فيروس الحمى القلاعية FMDV، تكون غير ثابتة ولا تثابر بدرجة تكفي لأن تكون مولدة مناعيًا Immunogenic، إلا أنه يمكن الحفاظ على وحدة فيريونات الحمى القلاعية وتكاملها بحفظها في الفورمالين.

والمعززات Adjuvants من أنواع مختلفة من المواد أو التحضيرات ومنها:

١ - هلامات أملاح الألومنيوم غير العضوية Gels of inoganic aluminium salts: مثل الشب Alum وهيدروكسيد الألومنيوم Alminium hydroxide وهلامات الفوسفات Phosphate gels وهي معززات شديدة الفعالية مع التوكسويدات البكتيرية.

٢ - مستحلب الماء في الزيت Water-in-oil emulsion مثل معزز "فروند" غير الكامل Freund's incomplete adjuvant والذي يتكون من الزيت المعدني مع مادة أرلاسيل - أ Arlacel A كمادة مستحلبة ويكون تفاعلها، عادة، أشد مما ينبغي للإستخدام الميكانيكي العادي.

٣ - المركبات المحبة للدهون Lipophilic componds ، مثل الصابونينات Saponins الذي يستخدم على نطاق واسع في اللقاحات البيطرية وهو مادة ممتازة لكنه يعد ، بصفة عامة ، غير نقي وسام بدرجة لا تسمح باستخدامه في الإنسان.

٤ - البكتيريا Bacteria ، مثل بكتيريا السل العصوية Tubercle bacilli وبكتيريا العد (حب الشباب) البريبونية *Propionobacterium acnes* ونوع *Corynebacterium parvam*. وبكتيريا السعال الديكي الوتدية *Conrynebacterium pertussis*. ويعد ثنائي ببتيد الميورامايل العنصر الفعال في عصويات السل. أما عصويات كالميت جورين للسل Bacillus Calmette-Guerin وهو ما يعرف اختصارًا بي. سي. جي (BCG) فهي مصدر لمعزز يلقى نجاحا كبيرا - الآن - في صناعة اللقاحات.

الجدول رقم (١٢). اللقاحات الجاري استخدامها ضد الفيروسات*.

الفيروس	المرض	نوع اللقاح
شلل الأطفال	شلل الأطفال	لقاح سولك Salk - فيروس مثبط لقاح سابين Sabin-فيروس مضعف
الإنفلونزا	مرض تنفسي	لقاح فيروس مثبط
السعار	السعار	لقاح فيروسي مثبط
الالتهاب الكبدي – ب	الالتهاب الكبدي ، وسرطان الكبد	لقاح تحت وحدة subunit : الأنتيجين السطحي HBsAg
فيروسات أدنو ٤ ، ٧	مرض تنفسي ، العين ، القرنفلية المعدي	لقاح حي ومضعف
الحصبة الألمانية (روبيللا)	الحصبة الألمانية (ينتج عنها عيوب عند الولادة عندما تكون الأم الحامل مصابة)	لقاح حي ومضعف
الحمى الصفراء	الحمى الصفراء	لقاح حي ومضعف
الحصبة	الحصبة	لقاح حي ومضعف
فاكسينيا	الجدري	لقاح حي ومضعف
الغدة النكفية	الغدة النكفية	لقاح حي ومضعف

* عن آرنولد ليفين ١٩٩٢م.

٥ - **الأجسام الدهنية Lipoxomes**: وتعد هذه التحضيرات معقدة التجهيز.

(٢١,١,٣,٣) اللقاحات المنتجة بوساطة ح ن د معاود الارتباط

Vaccines produced by RDNA.

مثل إنتاج لقاح ضد فيروس الالتهاب الكبدي - ب عن طريق تقنية ح ن د معاود الارتباط Recombinant DNA technology ، بوساطة الخميرة والذي أدى إلى إنتاج ضخم من لقاح أكثر أمنًا من اللقاح المحضر من بلازما دم البشر، على الرغم من أن الأخير لم يكن مرتبطًا أبدًا بأية آثار جانبية معنوية.

(٢١,١,٣,٤) عديدات التسكر المشبوكة Conjugated ploysaccharides:

لقد أشير إلى الاستجابة الفقيرة للأطفال ضد الأنتيجينات عديدة التسكر. إن شبك أو ربط عديدات التسكر أو قليلات التسكر Oligosaccharides (البكتيرية) مثل هيموفيلاس إنفلونزي *Haemophilus influenzae* لبروتين مثل توكسويد الدفتيريا قد منح اللقاحات فعالية في هذه المجموعة من اللقاحات - لكن لا يبدو أن الأمر كذلك بالنسبة للفيروسات؛ فالمكونات السكرية - إن وجدت - على سطح الفيروس لا تكون أنتيجينيات رئيسية للفيروس.

(٢١,١,٣,٥) اللقاحات المخلقة Synthetic vaccines:

إن اللقاحات المخلقة، بسبب نقاوتها العالية قد توفر حماية لا ترتبط بأية آثار جانبية تذكر. مع ذلك، فإن الببتيدات المصنعة سوف تحتاج جزيئات حاملة Carrier molecules فعالة ومأمونة، ولها القدرة على استحثات خلايا - ت المساعدة بدون أن تستحث خلايا - ت المثبطة.

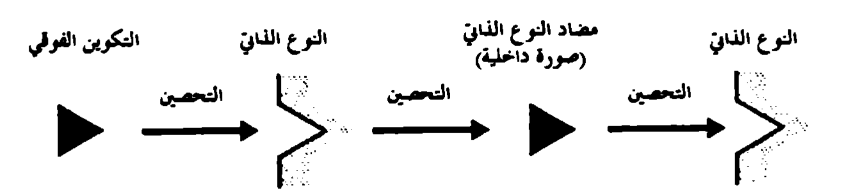
(٢١,١,٣,٦) قفل مستقبلات نوعية Blocking of specific receptors:

إن المستقبلات النوعية التي توجد على سطح خلايا العائل تعمل مواضع للاتصال بالنسبة للفيروسات. فاللقاحات يمكنها أن تقفل الطريق للوصول إلى

المستقبلات، بالمحاكاة الجزيئية Molecular mimicry للتركيب الخارجي للفيروس. ومثال ذلك عمل لقاح ضد سي دي - ٤ (CD 4) الموجود على خلايا - ت المساعدة والتي تصاب بفيروس إتش. آي. في (HIV) المسبب لمرض الأيدز. ولكن هذا اللقاح لم ينجح.

(٢١,١,٣,٧) اللقاحات المضادة للأنواع الذاتية Anti-idiotype vaccines :

إن أي جسم مضاد (من النوع الذاتي Idiotype) مستحث لتكوين فوقي نوعي لأنتيجين ما يكون لديه موضع ارتباط Combining site يناسب التكوين الفوقي Epitope، تمامًا؛ فإذا كان هذا الجسم المضاد، بالتالي، قد استخدم مولدًا مناعيًا Immunogen ليستحث تكوين جسم مضاد (مضادة النوع الذاتي Anti-idiotype) يتفاعل مع موضع ارتباط النوع الذاتي، فإن مضادة - التكوين الذاتي قد تحاكي التكوين الفوقي (الشكل رقم ٤٨)، ويشار للمحاكاة التركيبية بأنها صورة داخلية. وبسبب التشابه بين مضادة النوع الذاتي وبين التكوين الفوقي للأنتيجين، فإن صورته الداخلية



الشكل رقم (٤٨). تمثيل بياني لمضادة النوع الذاتي (صورة داخلية) للمولد المناعي Immunogen (عن بنيامين وليسكوفيتس).

(Anti idiotype antibody) يمكن أن تستخدم مولدًا مناعيًا Immunogen ليستحث تكوين أجسام مضادة ضد التكوين الفوقي الأصلي. ومن أمثلة المولدات المناعية المكونة من أجسام مضادة ما صنع في الفئران ضد الجسم المضاد للأنتيجين السطحي لفيروس

الالتهاب الكبدي - ب الذي صنع في الفئران. إذ إن التحصين بهذه الأجسام المضادة للنوع الذاتي Anti-idiotype antibodies والتي تحتوي على الصورة الداخلية لمكون فوقي على الأنتيجين السطحي لفيروس الالتهاب الكبدي - ب يستحث تكوين أجسام مضادة ضد ذاك التكوين الفوقي.

(٢١,١,٣,٨) لقاح حامل الفيروس Virus carrier vaccine:

لقد أمكن إدخال جين لفيروس أو من أي مصدر آخر بوساطة فيروس حي مثل فاكسينيا Vaccinia أي عن طريق ناقل Vector لهذا الجين الذي يشفر للأنتيجين المطلوب. ويعمل الفيروس الذي يتكاثر في الإنسان لقاحًا لهذا الأنتيجين بالذات. ويعد هذا المدخل مفيدًا على اعتبار أن الفيروس الذي يعمل حاملاً لجين، ليس خطرًا على العائل، ولهذا اللقاح المكون من الحامل الفيروسي ميزة إضافية في كونه يستحث المناعة الوسيطة بالخلية والمناعة الوسيطة بالجسم المضاد ضد الأنتيجين المحمول بداخل الفيروس الناقل ويتميز الفيروس الناقل بأنه قد نزعت منه جينات الشراسة أو المرض.

(٢١,٢): التحصين السالب Passive immunization:

تنتج المناعة السالبة عند نقل أجسام مضادة، أو خلايا مناعية Immune cells إلى فرد من شخص آخر يكون قد استجاب بفعالية مباشرة للاستحثاث المناعي المباشر بوساطة الأنتيجين. ويمكن أن تقسم إلى مناعة طبيعية ومناعة صناعية.

(٢١,٢,١) المناعة السالبة الطبيعية Natural passive immunity:

١ - مناعة الأم المنقولة عبر المشيمة Maternal immunity via the placenta. إن وجود أجسام مضادة لدى الأم يكسب الجنين وقاية سالبة تكون فعالة في حالة وفرة الجلوبيولين المناعي ج IgG لدى الأم، والتي تنتقل للجنين عن طريق المشيمة والحبل السري.

٢ - مناعة الأم عبر لبن السرسوب Maternal immunity via colostrum. يحتوي لبن الأم على عوامل يمكنها أن تؤثر على استجابة الطفل الرضيع للعوامل المعدية. وبعض هذه العوامل هي عوامل طبيعية انتخابية بحيث يمكنها أن تؤثر على الفلورا الدقيقة الموجودة بالأمعاء Intestinal microflora والتي تشمل فعل الإنزيمات المحللة Lysozymes واللاكتوفيرينات Lactoferrin وخلايا الدم البيضاء (البلاعم الكبيرة وخلايا - ت وخلايا - ب والخلايا المحببة Granulocytes). كما توجد، أيضًا، في لبن الأم الأجسام المضادة من النوع - أ (IgA) والتي يكون تركيزها أعلى في لبن السرسوب (أول لبن يتدفق من صدر الأم بعد وضع الجنين). وتوجد علاقة بين إنتاج الأجسام المضادة في الغدد الثديية وبين الأنتيجينيات التي تدخل للأم عن طريق الأمعاء ثم هجرة خلايا - ب المستحثة بالأنتيجينات من الصفائح الأصلية بالمعي Intestinal lamina propria إلى الصدر. لذا، فإن الكائنات الدقيقة التي تصيب الأمعاء أو تعيش فيها تؤدي لإنتاج أجسام مضادة ضدها في لبن السرسوب. والذي، بالتالي يعطي وقاية للأطفال الرضع ضد أمراض الأمعاء، ومن أمثلة هذه الفيروسات: شلل الأطفال وإيكو وكوكساكي.

(٢١,٢,٢) المناعة السالبة الصناعية:

وهي تتم عن طريق نقل أجسام مضادة جاهزة من إنسان سبقت له الإصابة بمرض فيروسي معين، وإعطاء هذه الجلوبيولينات المناعية للحالات الآتية:

١ - الوقاية من وباء.

٢ - الأشخاص ناقصي المناعة.

٣ - الأطفال قبل سن ٦ شهور والمعرضين لمخاطر معينة.

الفصل الثاني والعشرون

علاج الأمراض الفيروسية والمضادات الفيروسية

Treatment of Viral Diseases and Antivirals

تعد الفيروسات أقل المجموعات الحيوية التي يمكن علاج أمراضها بعقاقير كيميائية أو ما يشبه المضادات الحيوية. ولعله من العجيب ألا يكون هناك علاج أو شفاء Cure من الأمراض الفيروسية. ولعلنا نتساءل: لماذا لا يوجد بنيسيللين للأمراض الفيروسية مثلما هو الحال بالنسبة للأمراض البكتيرية؟.

ومع هذا، فإن الأبحاث من أجل ا لتوصل إلى مضادات فيروسية Antivirals تصلح للعلاج الكيميائي Chemotherapy للأمراض الفيروسية بعد تأسيسها قد اتسع نطاقها بشكل مكثف وحيث منذ ظهور مرض الأيدز عام ١٩٧٨م، والذي هددت وبائياته كل أنحاء العالم. ولأن بعض النتائج التجريبية والمحاولات الإكلينيكية لعقاقير معينة قد صادفت بعض النجاح، فإن هذا شجع علماء الفيروسات لفتح ملفات كل المواد الكيميائية الموجودة والتي يمكن تصنيعها من المنتجات الطبيعية Natural products، وأيضًا، لعل وعسى أن يتم اكتشاف علاجات للأمراض الفيروسية.

ومن بين هذه المواد:

(٢٢,١) أسايكلوفير (زوفيراكس) Acyclovir (Zovirax)

يعد أسايكلوفير - الآن - من العقاقير الناجحة التي سوقت لعلاج أمراض فيروسات القوباء Herpesviruses. ويشبه أسايكلوفير نيوكلوسيدتين تستخدمان لصناعة ح ن د (DNA = دنا). هما الثايميدين والسايتيدين. فقبل أن يستخدما لصنع ح ن د،

يلزم أولاً لهذه النيوكليوسيدات أن يضاف إليها مجموعة فوسفات حتى تحولها إلى نيوكليوتيدات. وتنتج الفيروسات القوبائية إنزيمًا فيروسيًا نوعيًا يعرف باسم ثايميدين/ سايتيدين كاينيز Thymidine / Cytidine Kinase (كاينيز = إنزيم فسفرة)، أي أنه يعمل كعامل مساعد لإضافة مجموعة الفوسفات. ويمكن لهذا الإنزيم أن يخطىء أسايكلوفير. إن إضافة مجموعة الفوسفات هذه تعد أول خطوة بوساطة إنزيم فيروس القوباء والتي يتم بها تحويل أسايكلوفير إلى شكل مضاد فيروس Antiviral form. وفي الخطوة التالية، تضيف الإنزيمات التي توجد، أصلاً، في الخلية المصابة مجموعتي فوسفات إضافيتين لتوليد أسايكلوفير ثلاثي الفوسفات Acyclovir triphosphate. وأسايكلوفير ثلاثي الفوسفات هو التركيب الكيميائي في شكله الفعال والذي يقوم بالتداخل مع تكاثر فيروس القوباء. ويتم ذلك التضاد الفيروسي أولاً: بالتنافس مع دي أوكسي جوانوسين ثلاثي الفوسفات Deoxyguanosine triphosphate من أجل موضع الارتباط على الانزيم وهذا يمنع الإدخال السليم لنيوكليوتيدات الجوانين في دنا (ح ن د DNA). ثانيًا، قد يكون العقار نفسه قد أضيف عن طريق الخطأ على الطرف النامي من سلسلة دنا في موضع نيوكليوتيدة جوانين. فإذا حدث ذلك، فإن تركيب أسايكلوفير سوف تنقصه المجموعات الكيميائية اللازمة لربط النيوكليوتيدة القادمة. ولا يرتبط أسايكلوفير ولا يتداخل مع إنزيم بلمرة دنا DNA الخلوي.

ويعطي أسايكلوفير في شكل مرهم Ointment أو أقراص أو بالحقن مباشرة في مجرى الدم. ولا يمكن أن يوصف على أنه شفاء Cure لأغلب الإصابات القوبائية، ولكنه يستخدم ضد أمراض مثل القوباء الجنسية والقوباء النطاقية Shingles النطاقية (زوستر Zoster) والالتهاب المخي القوبائي. ولقد أثبت أن فائدته عظيمة في الإسراع في الشفاء وتقليل قسوة الأعراض ومنع المعاودات Recurrencies في فيروسات القوباء البسيط ١، ٢ وفاريسيللا - زوستر، إلا أنه عديم التأثير على الكمون Latency، أو معاودة الإصابة Recurreney بعد إيقاف العلاج. وقد عزلت من فيروس القوباء طفرات مقاومة لأسايكلوفير. وهو يعالج، أيضًا، إصابات فيروس مضخم الخلايا

Cytomegalovirus التي تتهدد حياة المتسامحين مناعيا Immunocompromised ، أي الذين يوجد لديهم التهاب رئوي أو التهاب في شبكية العين.

لكن لأسايكلوفير آثارًا جانبية قليلة مثل الطفح واضطراب المعدة والأمعاء وعطب كلوي - وكلها مؤقتة.

(٢٢,٢) أمانتادين Amantadine

وهو ألفا أدامانتان - أمين adamantan amine - ∝ واسمه التجاري سيميتريل Symmetrel ، ومنه مناظر آخر هو رايمانتادين Rimantadine. وهو مركب ثلاثي الحلقة وقد استخدم للوقاية بنجاح في علاج فيروس إنفلونزا أ وليس إنفلونزا - ب. ويجب أن يبدأ علاج الإصابة مبكرًا جدًا كما أن المعالجة بالفم قد قللت عدد ساعات الحمى. وهذا الدواء يقبض اختراق الفيروس وربما تكون له تأثيرات ضد فيروسية أخرى ، كما يحتمل أنه يمنع عملية النسخ Transcription. وهو واسع الاستعمال في روسيا لكن يفضل عليه في الولايات المتحدة الأمريكية إستخدام اللقاح في التجمعات عالية الخطورة.

ومن الملاحظ أن هذا الدواء فعال في العلاج Treatment والوقاية Prophylaxis كليهما ويعطى عن طريق الفم. ومن آثاره الجانبية ، خاصة في العجائز ، الأرق Insomnia والعصبية والدوخة Dizziness ، لذا يجب أن تستخدم لهم جرعات مخفضة.

(٢٢,٣) أيودوكس يوريدين Idoxuridine

ويختصر IDU ويسمى ، تجاريًا ، ستوكسيل Stoxil أو هيربليكس Herplex. وهو عبارة عن ٢ - أيودو -٢ دي أوكسي يوريدين 2-iodo-2-Deoxyuridine وهو مناظر للثايميدين. فبدلاً من وجود مجموعة ميثيل في موضع - ٥َ ، فإن IDU يحتوي على ذرة يود. ويقوم فيروس القوباء باستحثاث إنزيم ثايميدين كاينيز Thymidine kinase - الذي يفسفر عادة ثايميدين - والذي يفسفر مجموعة هيدروكسيل - ٥َ ، في IDU معطيًا IDU

أحادي الفوسفات الذي يفسفر أكثر معطيًا أيودوكسي يوريدين ثلاثي الفوسفات. وهذا المركب الأيضي يدخل في كل من ح ن د DNA لفيروس القوباء و ح ن د الخلوي في الخلية المصابة. ويؤدي هذا الإدخال لتشفير خاطىء Incorrect coding فيما يتعلق بالتكاثر وبالنسخ مما ينتج عنه تصنيع بروتينات غير وظيفية. كما أن فيروسات دنا الأخرى، عدا القوباء، يمكن أن تقل بوساطة IDU.

ويعالج به التهاب الملتحمة Keratitis والتقرحات المتشبعة Dendritic ulcers للقرنية الناتجة عن القوباء البسيطة وذلك باستخدامه على شكل قطره Eyedrops أو مرهم. كما أنه يستخدم، أحيانًا، مذابًا في ٥٪ ثنائي ميثيل سلفوكسايد (دمسو) Dimethylsulfoxide (DMSO)، لعلاج جروح الجلد القوبائية. وليس له آثار جانبية قوية إذا استخدم موضعيا، أما الاستخدام الجهازي فإنه يمكن أن يسبب كبحًا لنخاع العظام.

(٢٢,٤) ميثيازون (ماربوران) Methiazone (marboran)

ميثيازون هو ان - ميثيل إزاتين - بيتا - ثيوسيميكار بازون N-methylisatin-β-thiosemicarbazone. وقد إستخدم هذا الدواء في علاج جدري الإنسان Smallpox وجدري الأبقار Vaccinia الذي يصيب الإنسان، أيضًا.

(٢٢,٥) ثلاثي فلوروثايميدين Trifluorothymidine

يقفل ثلاثي فلوروثايميدين تكاثر فيروس القوباء بطريقة مشابهة لأيودوكسي يوريدين، لكن التأثير السريري لثلاثي فلوروثايميدن على التهاب الملتحمة Keratitis القوبائية أفضل. وليس لأيودوكسي يوريدين ولا لثلاثي فلوروثايميدين فعالية على الإصابات التي تخترق عميقًا كما أن كليهما سام جدًا إذا استخدما في العلاج الجهازي.

(٢٢,٦) أدينين أرابينوسايد (فايدارابين - آرا - أ)

يشابه أدينين أرابينوسايد (٩ - بيتا - دي أرابينوفيورانوسايل أدينين: 9 - β - D - arabinofuranosyl adenine) دي أوكسي أدينوسين Deoxyadenosine، لكن

حل محل دي أوكسي رايبوز D-ribose سكر آخر هوأرابينوز Arabinose. وعند دخول Ara-A، سواء في الخلية السليمة أو المصابة بالفيروس، تتم فسفرته إلى آرا - أ ثلاثي الفوسفات Ara-A triphosphate. ويقفل هذا المركب الأيضي إنزيم بلمرة ح ن د (دنا) DNA Polymerase لفيروس القوباء. كما أن آرا - أ يثبط، أيضًا، معظم فيروسات ح ن د (دنا) الأخرى. وقد استخدم فايداراين في الحقن بالوريد لمدة ١٠ أيام (١٥ مجم/كجم/يوم) لعلاج الالتهاب المخي القوبائي، وقد قلل الوفيات بنسبة ٧٥٪ كما يعطي آرا - أ نتائج طيبة مع التهاب الملتحمة Keratitis، ولكن ليس مع القوباء الشفاهي Herpes labialis عندما يطبق موضعيًا، ويعالج كل من الجدري المائي (العنقز) والقوباء النطاقية بفعالية بوساطة أرا - أ عندما يطبق مبكرًا في الإصابة، والدواء عديم الذوبان نسبيًا ويظهر بعض السمية، كما أن أسايكلوفير يتفوق عليه.

(٢٢,٧) فامسيكلوفير Famciclovir

وقد سوق حديثًا لعلاج القوباء النطاقية (زوستر Zoster). ومنه شكل يؤخذ بالفم ويسمى بنسيكلوفير Penciclover يشبه في عمله أسايكلوفير، والذي يقوم، أيضًا، بتنشيط إنزيم ثايميدين كاينيز Thymidine kinase الفيروسي في الخلايا المصابة ولكن، له تأثير مثبط جيد ضد فيروس فاريسيللا - زوستر.

(٢٢,٨) جانسيكلوفير Ganciclovir

وهو مناظر نيوكليوسيدي يسمى ثنائي هيدروكسي بروبوكسي ميثيل جوانين (DHPG)Dihydroxy propoxy methyl guanine. ويحتوي على قطعة رباعية مكان سكر الريبوز وهو مشابه تركيبيًا لأسايكلوفير إلا أنه أكثر فعالية منه ضد فيروس مضخم الخلايا، كما أنه مفيد في علاج التهاب شبكية العين Retinitis الذي يسببه فيروس مضخم الخلايا CMV لدى مرضى الأيدز، وأيضًا، لدى الأفراد المتسامحين مناعيًا والذي يسبب CMV لديهم التهابًا رئويًا والتهابًا في الشبكية.

ويعطى جانسيكلوفير في الوريد بالحقن البطيء.

ومن آثاره الجانبية: نقص الخلايا البيضاء المتعادلة Neutropenia ونقص الصفائح الدموية Thrombocytopenia، بشكل عام، كما قد يسبب، أيضًا، طفحًا وحمى وعطبًا في وظائف الكلى وشذوذًا في اختبارات وظائف الكبد.

(٢٢,٩) فوسكارنيت(حامض فوسفورنوفورميك) (Foscarnet (Phosphornoformic aid

وهو فوسكارنيت صوديوم، أيضًا. وقد أعطى هذا الدواء نتائج ممتازة عند تطبيقه في المحاولات السريرية. وتركيبه مماثل لبيروفوسفات Pyrophosphate ويرتبط مع موضع ارتباط بيروفوسفات من بعض إنزيمات بلمرة الحامض النووي. ويقفل فوسكارنيت إنزيم بلمرة ح ن د (دنا) DNA polymerase لفيروسات القوباء البسيط ١، ٢ وفيروس مضخم الخلايا وفيروس فاريسيللا - زوستر وفيروس إبشتاين وبار. وأيضًا، فيروس الالتهاب الكبدي - ب، وإنزيم النسخ العكسي Reverse transcriptase في الفيروسات العكسية Retrovirus. ويحدث القفل عند تركيزات لا تثبط إنزيمات بلمرة الحامض النووي الخلوي.

ويعطى بالحقن البطيء في الوريد ويفيد، بصفة خاصة، في مرضى الأيدز المصابين بفيروس مضخم الخلايا والذي سبب لديهم التهابًا في الشبكية. ومن الآثار الجانبية: تسمم كلوي قد يصل إلى فشل كلوي وميل للقيء وقيء وتوعك ونقص في الكالسيوم Hypocalcaemia.

(٢٢,١٠) زيدوفيودين (آزوثايميدين، ريتروفير) إيه. زد. تي.

:Zidovudine (Azothymidine, Retrovir) AZT

وهومشابه نيوكليوسيدي يسبب إنهاء السلسلة أثناء إنشاء ح ن د (دنا) Chain termination of DNA synthesis في فيروس إتش آي. في. HIV المسبب لمرض الأيدز، ويثبط نمو الفيروس في المزرعة الخلوية. كما يستخدم الآن - على نطاق واسع لعلاج

مرضى الأيدز. وتكمن قيمته العلاجية في أنه يؤخر الموت، ولكنه لا يستأصل المرض كما لا يسبب الشفاء. وقد اقترحت المحاولات المبكرة بأن إعطاءه قبل تكشف الأعراض يمكنه أن يمنع ظهور الأيدز ذو الأعراض Symptomatic AIDS أو يؤخره.

ويعطى بالفم أو بالحقن في الوريد في جرعات مستمرة لسنين طويلة لكنه، مع طول الاستعمال، قد يسبب آلاما وسمية أشد إيلاما من مرض الأيدز غير المعالج. ومن آثاره الجانبية: فقر الدم، وإحباط نخاع العظام، مع نقص في خلايا الدم المتعادلة وعطب كلوي وكبدي وميل للقيء، وقيء وتوعك علاوة على أن تكلفة العلاج به فوق ٢٠٠ ألف دولار. والدواء يطيل فترة البقاء، فقط، لكن الموت حتمي.

(٢٢,١١) رايبافيرين (فايرازول) Ribavirin (Virazole)

هو مشابه نيوكليوسيدي. والدواء يثبط إنشاء نيوكليوتيدات الجوانين اللازمة لبناء ح ن د (دنا) أو ح ن ر (رنا) (DNA-RNA). لهذا فإن له مدى واسعا Wide spectrum كمضاد فيروسي ضد فيروسات ح ن د (دنا) وفيروسات ح ن ر (رنا). وقد شارك المؤلف عام ١٩٨٥م في المحاولات السريرية للدواء قبل أن يرخص له بالبيع في أسواق أمريكا والعالم. ويؤثر الدواء على مدى واسع من الفيروسات منها، أيضًا، فيروس الدمج الخلوي التنفسي RSV والفيروسات الرملية Arenaviridae والفيروسات الخيطية Filoviridae وأيضا ضد فيروس الإلتهاب الكبدي ج .

ويعطى كرذاذ لعلاج فيروس الدمج الخلوي التنفسي أو بالحقن في الوريد لعلاج فيروس لاسا Lasa وماربورج Marburg وإيبولا Ebola.

ومن تأثيراته الجانبية: ضيق التنفس وزيادة الخلايا الشبكية Reticulocytosis.

(٢٢,١٢) إينوسين برانوبكس Inosine pranobex

ويمكن أن يستخدم لعلاج القوباء البسيطة الجلدية المخاطية Mucocutaneous ودواءً مشاركًا في الثآليل الجنسية Genital warts التي يسببها فيروس بابيللوما Papilloma، وربما يكون تأثيره هو تنشيط الجهاز المناعي ويعطى عن طريق الفم.

(٢٢,١٣) ثنائي دي أوكسي إينوسين Dideoxyinosine (ddI)

وهو مشابه نيوكليوسيدي يقوم بإنهاء بناء سلسلة ح ن د (دنا) Termination of DNA chain. وهو لا يحتوي على مجموعة هيدروكسيل على سكر الرايبوز، ويتحول الدواء في الخلايا إلى ثنائي دي أوكسي أدينين ثلاثي الفوسفات ddATP وهو المركب الفعال. ويؤثر مباشرة على تكوين دنا بوساطة إنزيم النسخ العكسي Reverse transcriptase في فيروس إتش. آي. في HIV المسبب للأيدز. ويعد علاجًا مفيدًا لمرضى الأيدز الذين لا يتحملون سمية AZT أو المقاومين له.

(٢٢,١٤) الإنترفيرون Interferon

يعد الإنترفيرون دواء فعالا في علاج بعض المرضى بالتهاب الكبد - ب المزمن والتهاب الكبد - ج. وفي علاج بعض أنواع السرطان.

الفصل الثالث والعشرون

فيروسات الأسماك
Fish Viruses

بدأت الأمراض الفيروسية في الأسماك تأخذ أهمية في الدراسة منذ عام ١٩٦٠م. ونتيجة لاستفادة علماء فيروسات الأسماك من خبرات علماء فيروسات النبات والحيوان وغيرهم، فقد حققوا تقدمًا هائلاً وسريعًا في هذا المجال.

وللطبيعة الخاصة للأسماك ودراستها، فقد تم تطبيق الإمكانيات الحديثة في هذه الدراسات. فقد استخدمت طرق عزل فيروسات الأسماك وتعريفها في المزارع الخلوية حتى يتم التعرف مباشرة على الأصل الفيروسي للمرض لما يسببه من تأثير مرضي خلوي CPE ومن ثم، تسهل عملية الكشف والعزل والتشخيص والتنقية والدراسات اللاحقة. وتصاب كثير من الأسماك البحرية والنهرية بالعديد من الفيروسات. وفيما يلي بيان ببعض أمثلة من فيروسات الأسماك.

(٢٣,١) فيروس نخر البنكرياس المعدي Infectious pancreatic necrosis (IPNV)

يسبب فيروس نخر البنكرياس المعدي IPNV مرضًا حادًا إلى تحت حاد شديد العدوى بين أسماك السلمون Salmonid fishes. وقد عرف هذا المرض قبل عام ١٩٤٠م ولكن لم تظهر أية أبحاث عنه إلا في تلك السنة. وكان هذا المرض يسمى التهاب الأمعاء المخاطي الحاد Acute catarrhal entiritis في تلك الأيام بسبب تكوين قرص مخاطي لامع يوجد، بصفة خاصة في الأمعاء في الحالات الواضحة من المرض. وقد حدث المرض في العديد من مزارع الأسماك في ولايات كونيكتيكت وبنسلفانيا

وفرجينيا الغربية بالولايات المتحدة الأمريكية، مما يوحي بان له طبيعة معدية. وكان يعتقد في السابق بأن المرض مرتبط بارتفاع درجة الحرارة في الربيع أو لسوء التغذية. ويرجع ذلك إلى أن أعراض المرض لا تظهر اللهم إلا إذا تزايد نشاط السمك قبل الموت وتوقف تدفق البول مع الزيادة الهائلة للإفرازات المخاطية في الأمعاء، كما كانت القناة الهضمية، دائما، خالية من الطعام والبراز. وقد تم عزل فيروس IPNV في المعمل عام ١٩٦٠م وبهذا تأكدت الطبيعة الفيروسية للمرض.

(٢٣,١,١) خصائص الفيروس

يتبع الفيروس عائلة ثنائية ح ن ر Birnaviridae، إذ يحتوي الفيروس على مورث من قطعتين من ح ن ر مزدوج الخيط ds-RNA، وفيروس IPNV قطره ٥٧ - ٧٤ نانومترًا، غير مغلف، إيكوزاهيدرالي. وتحتوي الفيريونات على نشاط إنزيم بلمرة ح ن ر، ويقاوم الفيروس الحرارة عند ٦٠° م لمدة ١٥ دقيقة. ويمكن للفيروس أن يبقى حيًا في الهواء ودرجة حرارة المعمل لمدة ٥ أسابيع. ويبقى حيًا بشكل جيد في مياه البحر. كما لا يتأثر الفيروس بمذيبات الدهون. ويحتفظ الفيروس بحيويته عندما يخزن مجمدًا في المزرعة الخلوية من السمك عند درجة -٢٠° م لمدة ٥ سنوات أو أكثر. أما إذا خزن في ٥٠٪ جليسرين عند ٤° م، فإنه يظل حيًا لمدة عامين ونصف.

(٢٣,١,٢) خصائص المرض

من الأنواع القابلة للإصابة Susceptible بالمرض التروتة Trouts (سمك السالمون المرقط) والسلمون Salmon، وفي الأسماك، تكون صغار السمك Fries التي فقست مباشرة الأكثر حساسية للإصابة. ويسبب نسبة إماتة عالية في صغار سمك القاروس المخطط Striped bassfry والسمك المبطط الجنوبي Southern flounder وسمك الهف فضي الجانبين Atlantic silverside وسمك النعّاب الأرقط Spot fish وسمك النعّاب Croaker fish وسمك الفرخ الفضي Silver perch وسمك الخنزير ذو الطوق

Hogchoker وسمك أبي ذقن المخطط Striped mullet. وتحدث الإماتة بنسب عالية حتى ولو كانت مياه البحر عالية الملوحة (٢٠٪). كما عزل الفيروس من أسماك تبدو سليمة وبدون أعراض من مثل السمك الذهبي Golden fish ودانيو المخطط Zebra danio والسمك القرصي Discus fish وسمك الكراكي Pike (نهري) وسمك الفرخ Perch وسمك الكارب Carp (نهري حسكي).

(٢٣,١,٣) وبائيات المرض Epizootiology

أهم مصدر لفيروس IPNV هو سائل المبايض Ovarian fluid في الإناث المصابة (أو الحاملة) وفي البراز أو إفرازات المعي من الحالات المرضية. وينتقل مباشرة من الإناث الحوامل Gravid إلى البيض المتكشف. كما وجد الفيروس، أيضًا، في السائل المنوي للذكور، لذا فمن المحتمل أن تنتقل العدوى من الذكور المصابة للبيض. كما لوحظ أن الحالات المرضية من السمك تنز Shed أعدادًا ضخمة من الدقائق الفيروسية في الماء. وقد لوحظ أن الميلليلتر الواحد من الإفرازات المعوية للسمك النوام Moribund يحتوي على مليون جرعة معدية أو أكثر. كما يسهل عزل الفيروس من الماء الموجود به إفرازات السمك المصاب بالمزرعة السمكية. ويختلف تأثير فترة الحضانة على شراسة الفيروس وكذلك درجة حرارة المياه وقابلية العائل للعدوى وعوامل أخرى. وعند حقن فيروس منمى في مزرعة خلوية في فقس السمك عند بدء تكوين القناة الهضمية، تظهر الأعراض السريرية بين ٥ - ٧ أيام. أما إصابة فقس السمك الذي يتغذى في الماء، فإنه يعطي مرضًا واضحًا خلال أسبوع أو أسبوعين.

(٢٣,١,٤) علامات المرض:

تظهر العلامات الخارجية في صغار سمك السلمون والتي تشمل رفض أخذ الطعام وفقد التوازن تدريجيًا، العوم الحلزوني، وأحيانًا، الثني العنيف للجسم ربما نتيجة لآلام البطن والسبات Lethargy. أما السمك الذي يعاني حالات متقدمة للمرض

فإنه يسقط في القاع أو يسبح مع التيار. وتكون صغار الأسماك الأكبر والأسرع في النمو هي الأولى في الموت عند إصابتها.

وصغار سمك السلمون المصابة تصبح داكنة اللون وتفقد وزنها ويتكشف لديها فقر دم الشكل رقم (٤٩-ب).

(٢٣,١,٥) التشخيص

يعتمد تشخيص فيروس نخر البنكرياس المعدي IPNV على تاريخ المرض وعلاماته والمرض النسيجي وبيان الفيروس بوساطة المجهر الإلكتروني، ثم عزل الفيروس والتعرف عليه وعادة ما يكون السبات والعوم الحلزوني من العلامات المؤشرة على المرض. وسوف يظهر تشريح السمك الميت Necropsy لون الأمعاء الشفاف أو الأبيض. كما تمتلىء الأمعاء بالمخاط غالبًا ويكون كل من الكبد والطحال والخياشيم، عادة، شاحبة اللون.

وبصفة دائمة، فإن فيروس IPNV يسبب نخرًا وموتًا Necrosis لأنسجة البنكرياس سواءً كان قليلا أم كثيرًا. وفي داخل خلايا البنكرياس الموجود بها نخر متقدم، تظهر شبكة Lattice من الدقائق الفيروسية. وقد يحدث نخر في الكبد والكلى والطحال وغيرها من الأعضاء، لكنه لا يكون شديدًا كما هو في البنكرياس. وغالبًا ما تنتفخ الكلى والكبد.

(٢٣,١,٦) العلاج

لا يوجد علاج مباشر لكن يمكن إزالة الأسماك المصابة وإجراء تطهير للمياه بالكلور، كما تمت محاولة ناجحة للعلاج بالفيرازول Virazole (رايبا فيرين) في أسماك التروتة ونجحت عند تركيز ٠,٤ مجم/ مل ماء في خفض الوفيات إلى ٤٥ - ٥٥٪ بدلا من ٦٣٪ في التجارب الضابطة. كما يجب تجفيف المزارع لمدة ٦ أشهر. وقد نجحت تجارب التحصين بلقاح مقتول بالفورمالين. وقد وجد أن تغذية الأسماك على لقاح حي مضعف يمكن أن تكافح المرض.

(٢٣,٢) فيروس مرض التكيس الليمفاوي في السمك

Fish Lymphocystis Disease Virus (FLDV)

يسبب هذا الفيروس مرضًا مزمنًا Chronic بطيئًا Slow في خلايا الأنسجة الضامة Connective tissue cells. والخلايا المصابة هي، فقط، التي تصبح مفرطة الحجم Hypertrophic، أما غيرها من الخلايا أو الخلايا المتصلة بها، فتظل غير متأثرة، والنموات السرطانية Tumour growths ليست خبيثة Malignant، كما أن المرض، لا يكون عادة، قاتلاً للسمك المصاب. وقد ظهر أول تقرير عن هذا المرض بإنجلترا عام ١٨٧٤م وسمي الورم المتعدد Multiple tumour، ولكن لم يتأسس مسبب المرض الفيروسي إلا في خمسينيات القرن العشرين.

(٢٣,٢,١) خصائص الفيروس

يتبع فيروس مرض التكيس الليمفاوي LDV عائلة إريدو Iridoviridae وهي فيروسات كبيرة الحجم غير مغلفة إيكوزاهيدرالية تحتوي على مورثات (Genomes مجينات) من ح ن د مزدوج الخيط d - s DNA. ومتوسط قطر الفيروس ٢٥٠ نانومترا في مدى من ٢٠٠ - ٣٠٠ نانومترًا وقد عزلت منه سلالتان من أسماك بحر الشمال (سلالة - ١) من السمك المبطط Floundes وسمك البلايس المفلطح Plaice، أما السلالة - ٢ فقد عزلت من أسماك دابس Dabs. ويتكاثر الفيروس في الستيوبلازم ويكون أجسامًا محتواة خيطية الشكل.

ويتكاثر الفيروس جيدًا عند درجة ٢٣ - ٢٥° م مع بيان تضخم الخلايا بعد نحو ستة أيام والمحفظة Capsule الخلوية بعد نحو ١٠ أيام. أما التكيس الليمفاوي فيكتمل في نحو ٣ - ٤ أسابيع عند هذه الدرجة.

وينتشر المرض في الولايات المتحدة وكندا وأوروبا وله مدى واسع بين الأسماك البحرية وأسماك الماء العذب. وقد تم تسجيله في ٨١ نوعًا من الأسماك تتبع ٣٣ عائلة و ٧ رتب. وينتقل الفيروس في الطبيعة كما تحدث العدوى والعدوى التجريبية في

أحواض السمك Aquaria ومصدره إما من نز Shedding من الخلايا الطلائية أو الخلايا الطلائية المصابة المتمزقة من خلال جروح دقيقة في الجلد والزعانف. وتتكون الأورام والنتوءات الثؤلولية على أماكن الدخول المخدوشة أو المجروحة كما قد يحدث الانتقال، أيضًا، بطريق الفم. وفترة الحضانة لمرض التكيس الليمفي الطبيعية تكون عادة عدة أسابيع ولكنها تختلف عن الإصابة التجريبية.

ويتميز مرض التكيس الليمفاوي بأنه يشفى وحده Self-limiting (ذاتيًا).

(٢٣,٢,٢) علامات المرض

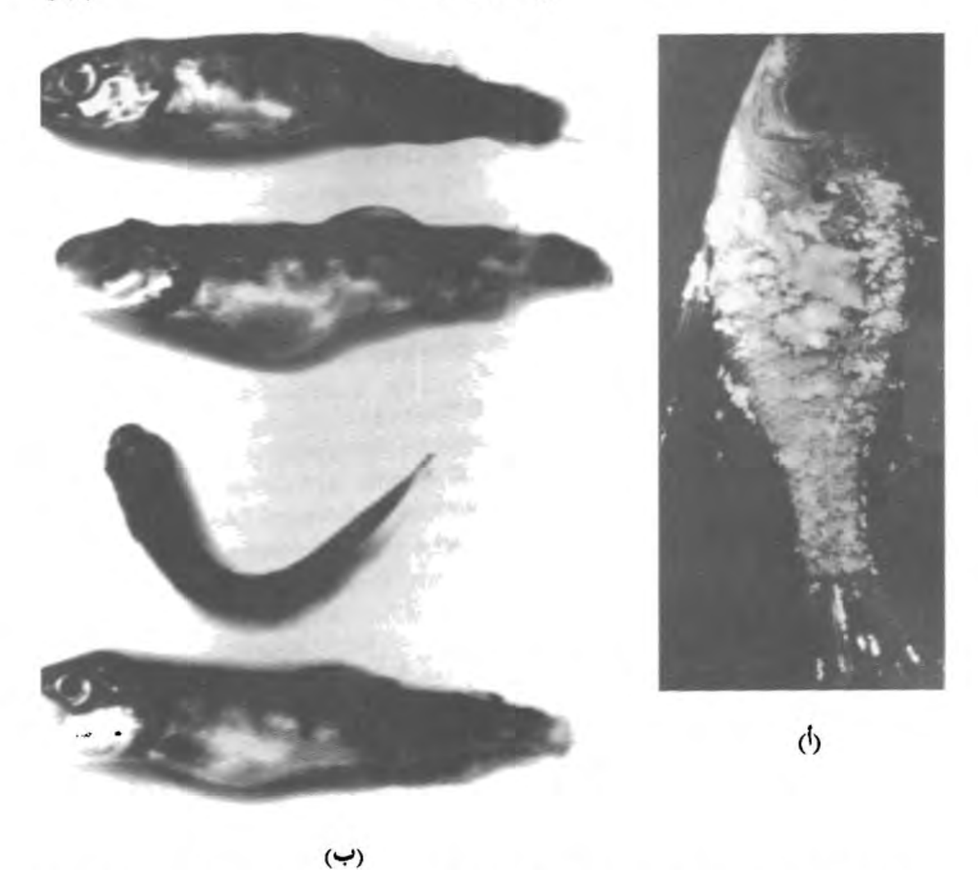
مرض التكيس الليمفاوي يسهل التعرف عليه من سطح الجسم. إذ توجد جروح التكيس الليمفاوي والنموات الثؤلولية Warty growths الخشنة على الجلد والزعانف. وقد تكون كتل التكيس الليمفاوي مناطق كبيرة أو قليلة في العدد وعادة ما تكون بيضاء رمادية أو قرنفلية اللون. وقد تكون هناك حاجة قليلة لتكبير الطبيعة الحبيبية الدقيقة للجروح. وكل حبة Grain هي خلية ليمفاوية متكيسة متضخمة جدًا. وقد تتمزق الخلية المتكيسة في كل الجروح فتتحرر الفيروسات في الماء، ويبقى الجرح السابق بعد الشفاء ندبة بيضاء اللون الشكل رقم (٤٩-أ).

(٢٣,٢,٣) التشخيص:

يبنى التشخيص على الرؤية الواضحة للجروح (Lesions) والتأثير المرضي النسيجي على الخلايا الطلائية الضامة حيث يحدث فيها تضخما، ولا حاجة لعزل الفيروس والتعرف عليه.

(٢٣,٢,٤) العلاج والمكافحة:

لا يوجد علاج، ولكن يلزم عمل الحجر البيطري وتقييد الحركة وتطهير مزارع وبرك تنمية السمك، كما يجب إزالة الأسماك المصابة وتدميرها.



(أ)

(ب)

الشكل رقم (٤٩). أ – صورة ضوئية لسمك الخياشيم الزرقاء Biuegill Fish به إصابة شاملة غير عادية من فيروس التكيس الليمفاوي lymphocystis virus infection (عن سميث وريتشي، ١٩٨٠م).

ب– أسماك مصابة بفيروس النخر البنكرياسي المعدي Infectious Pancreatic Necrosis Virus (IPNV)

الفصل الرابع والعشرون

فيروسات الحشرات

Insect Viruses (Entomoviruses)

لقد أصبحت دراسة فيروسات الحشرات Insect viruses ذات اهتمام عظيم وذلك من أجل فهم أفضل لـ:

١ - الأمراض الفيروسية التي تصيب الحشرات الاقتصادية خاصة دودة قز الحرير والنحل.

٢ - المكافحة الحيوية Biological control للآفات الحشرية Insect pests التي تصيب الإنسان، والحيوان والنبات.

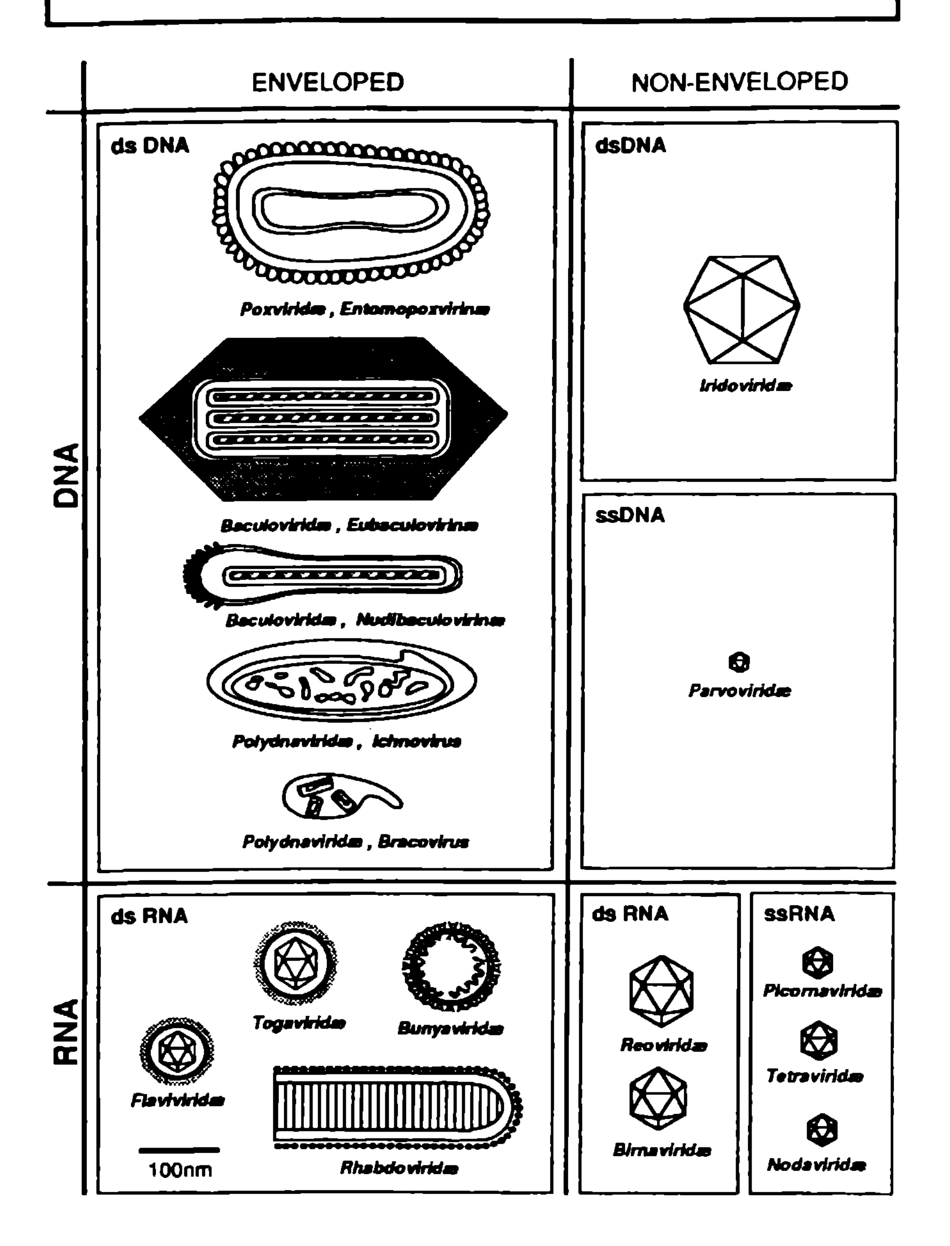
٣ - دور الحشرات كناقلات Vectors لنقل الأمراض الفيروسية التي تصيب الإنسان والحيوان والنبات والتي تزيد الحشرات من وبائياتها.

٤ - استخدام بعض فيروسات الحشرات في عمل لقاحات فعالة ضد أمراض فيروسية تصيب الإنسان والحيوان.

٥ - استخدام بعض فيروسات الحشرات في الهندسة الوراثية.

(٢٤,١) الأمراض الفيروسية التي تصيب الحشرات

تنقسم الأمراض الفيروسية التي تصيب الحشرات على حسب طبيعة وجودها داخل الخلايا المصابة (الشكل رقم ٥٠). إلى الأقسام التالية:



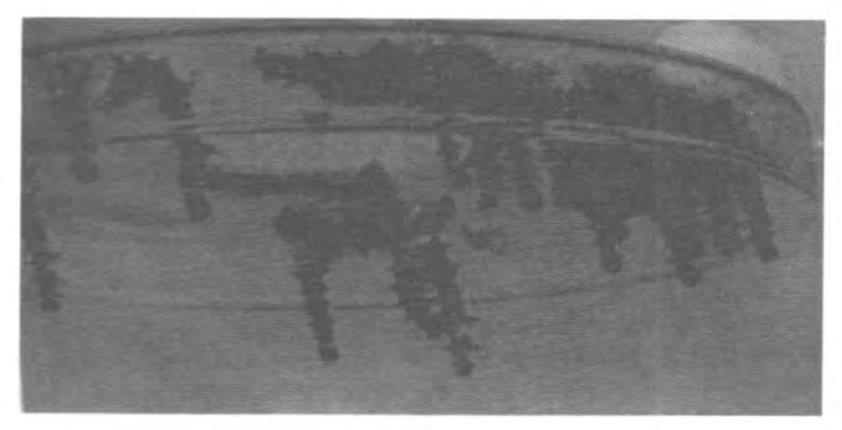
(الشكل رقم (٥٠). عائلات الفيروسات التي تصيب اللافقاريات (مايثوز ١٩٨٢م).

(٢٤,١,١) الأمراض عديدة التضليع النووي Nuclear polyhedrdrosis

من أهم علامات هذا المرض الخلوية، والتي ترى تحت المجهر في قطاع لليرقات المصابة، وهو تكوين أجسام محتواة inclusion bodies مطمورة Occluded داخل النواة تسمى عديدات الأضلع Polyhedra. ويحتوي كل عديد الأضلع منها على أكثر من واحد من الفيريونات المطمورة في أرضية Matrix عديد الأضلع. ومن أولى أمراض الحشرات التي عرفت وكان سببها الفيروس هو مرض التضليع النووي المعروف باسم "ذبول اليسروع" Caterpillar wilt في حشرات Agliasurticae. ومثل هذا المرض معروف، أيضًا، بالنسبة لدودة الحرير *Bombyx mori*، والذي يعرف باسم الصفراء Jaundice بسبب تلوينه للجلد باللون الأصفر. وتتأثر نواة الخلية عادة، وتحتوي على عديدات الأضلع التي يوجد بداخلها فيريونات عصوية من ح ن د DNA. والأنسجة التي تهاجم، أساسًا، هي خلايا الدم والأجسام الدهنية وارضية القصيبات الهوائية Tracheal matrix والبشرة. لكن تأثير الفيروس يكون أكثر وضوحًا على الجلد، فتظهر عليه الأعراض الخطيرة المميزة. ولأن الجلد يصبح رقيقًا Thin ومتقصفًا Fragile، فإنه يتمزق مسببًا خروج محتويات الجسم التي أصبحت سائلة Liquified، ويحتوي هذا السائل اللبني الذي يخرج من الجلد على عدة ملايين من عديدات الأضلع المحتوية على العديد من الفيروسات ويعد العامل الرئيسي في نشر المرض (أنظر الشكل رقم ٥١).

(٢٤,١,٢) مرض عديد التضليع السيتوبلازمي Cytoplasmic ployhedrosis

عندما تنتج عديدات الأضلع في الخلايا المصابة داخل السيتوبلازم، ويمكن التعرف على اليرقات Larvae المصابة عن طريق فقدها للشهية، وحجمها الصغير، وفي بعض الأحيان، عدم التناسب Disproportionality بين الحجم الكبير للرأس والزوائد الطويلة Bristles. ولأن الجلد لا يهاجمه الفيروس، فإنه لا يحدث في جلد اليرقة ارتخاء Flaccidity ولا تتسرب Leakage محتويات الجسم، على عكس ما يحدث في عديد التضليع النووي.



(أ)



(ب)

الشكل رقم (٥١). أعراض مرض يرقات حشرة الفراشة الصغيرة لصدفة السلحفاة المصابة بفيروس التعدد الضلعي النووي NPV . أ – بداية الإصابة، حيث تتعلق اليرقات وتتدلى. ب – نهاية الإصابة، تخرج اليرقة إفرازات وسوائل ثم تفرغ محتوياتها وتموت (عن سميث وريتشي ١٩٨٠م).

وعند فتح يرقة تكون قد ماتت بسبب التضليع السيتوبلازمي، نجد وضعًا شاذًا للقناة الهضمية، خاصة في المعي المتوسط Mid gut الذي يكون واضحًا. فبدلا من أن يكون لون هذا العضو أخضر باهتًا، كما هو الحال في اليرقة السليمة، فإننا نجد المعي المتوسط معتمًا Opaque، أصفر باهتًا أو أبيض لبنيًا في مظهره بسبب وجود الأعداد الضخمة من عديدات التضليع. ويظهر ذلك، غالبًا، من خلال جلد اليرقة في طور متأخر من المرض كبقع بيضاء على الطرف الأمامي. وفي أحيان كثيرة، تتقيأ Regrgitated (Vomited) عديدات الأضلع أو تخرجها مع البراز.

(٢٤,١,٣) المرض الحبيبي Granulosis

إن الفيروسات التي تسبب حدوث المرض الحبيبي تنتج أجسامًا محتواة Inclusion bodies تعرف باسم المحافظ Capsules والتي تختلف عن التضليع. ويشبه الفيريون أمثاله في عديدة التضليع النووي في أنه مثله عصوي الشكل ويحتوي على ح ن د DNA. والأجسام المحتواة في المرض التحبيي تكون على شكل بللورات صغيرة من البروتين قطرها نحو ٣٠٠ - ٤٠٠ نانوميتر أي تكاد ترى بالمجهر الضوئي.

وتصاب عثة الدقيق الهندي Indian meal moth "*Plodia interpunctella*" بالمرض الحبيبي الذي يسبب ابيضاضًا "Whiteness" لليرقات المصابة (انظر الشكل رقم ٥١).

وتعرف أنواع الفيروسات التي سبق ذكرها، عادة، باسم الفيروسات المحوطة Occluded viruses لأنها توجد في أجسام محتواة Inclusion bodies.

(٢٤,١,٤) الفيروسات غير المحوطة Non-occluded viruses

يصيب فيروس تيبولا إيرديسنت Tipula iridescent يرقات ذبابة طائر الغرنوق Crane fly (*Tipula paludosa*). وهو فيروس كبير غير مغلف، يحتوي على ح ن د مزدوج الخيط d.s-DNA وإيكوزاهيدرالي الشكل والتماثل. ويتكاثر الفيروس في السيتوبلازم.

(٢٤.٢) أهمية دراسة فيروسات الحشرات

تقاوم الحشرات الضارة عن طريق المكافحة الحيوية Biological control ويعد استخدام الفيروسات التي تصيب الحشرات من أهم وسائل المكافحة الحيوية والتي تفضل عن المبيدات الحشرية Insecticides الكيميائية. لكن يلزم لذلك أن يكون الفيروس أو الفيروسات المستخدمة فعالة وأن يكون طور دورة الحياة الأكثر قابلية للإصابة معروفًا، وعادة ما يكون الطور اليرقي وربما انسلاخًا محددًا من انسلاخات اليرقة. وتؤخذ بعين الاعتبار، أيضًا، العوامل البيئية التي تؤثر على تكاثر المحقن الفيروسي وفعاليته ومثابرته. وقد نجحت الفيروسات في مكافحة حشرات دودة ورق القطن وديدان اللوز، وأيضًا، دودة ورق الكرنب وغيرها.

كما أنه يمكن وقاية الحشرات الاقتصادية النافعة، وخاصة دودة قز الحرير ونحل العسل. وذلك إما بمكافحة الفيروسات التي تهاجمها. وإما باختيار سلالات أكثر مقاومة للفيروسات.

الفصل الخامس والعشرون

الفيروسات والسرطان

Viruses And Cancer

الفيروسات المولدة للسرطان

Oncogenic Viruses

الفيروسات المولدة للسرطان Oncogenic viruses (cancer = tumour = Onco) هي تلك الفيروسات التي تسبب سرطانًا Cancer. ويمكن أن تسبب الفيروسات سرطانات حميدة Benign أو خبيثة Malignant في العديد من الحيوانات والإنسان، وقد عدت فيروسات الأورام tumour viruses أحد الأسباب القوية في أمراض السرطان، منذ بداية القرن العشرين. ففي عام ١٩٠٨م، أظهر كل من إيلليرمان وبانج Ellerman & Bang سرطان خلايا الدم Erthromyeloblastosis في الدواجن وأنه يمكن أن ينتقل بوساطة الراشح الخالي من الخلايا Cell-free filtrate. وفي عام ١٩١٠م بين بيتون راوس Pyton Rous المنشأ الفيروسي Viral aetiology لأورام صلبة في الدواجن (والتي تعرف - الآن - بسرطان ساركوما راوس Rous sarcoma). وظل هذا الاكتشاف بدون تقدير حتى جاء جرين Green عام ١٩٥١م فاكتشف فيروس لوكيميا الفئران Murine leukemia virus. ومنذ ذلك الوقت، وبسبب زيادة نسبة حدوث الوفيات من السرطان في البشر، فقد زاد الاهتمام كثيرًا بحيث أصبح واضحًا أن العديد من الفيروسات تسبب أمراضًا سرطانية.

(٢٥,١) العوامل المسببة للسرطان Agents causing cancer

من بين العوامل التي تسبب سرطانات في الإنسان:

١ - الفيروسات، ٢ - الكيميائيات، ٣ - التعرض للإشعاع: الأشعة الكونية والأشعة فوق البنفسجية (uv) وأشعة جاما Gamma، ٤ - الجينات المورثة Heridetary genes، ٥ - الضغوط الفسيولوجية والبيئية، ٦ - تدخين التبغ أو التعرض لأدخنته، ٧ - الأمراض الميكروبية والطفيلية، ٨ - الصدمات العاطفية القاسية المفاجئة (فرحًا أو حزنًا).

وتعتبر الفيروسات مولدات للسرطان أكثر من الكيميائيات المسرطنة.

(٢٥,٢) أنواع السرطان Types of cancer

١ - خبيث Malignant: وفيه ينتشر السرطان من المواضع الأولية للتكشف إلى مواضع أخرى في أنحاء الجسم مسببًا الإنتشار (نقائل) Metastasis. والسرطان الخبيث شرس جدًا وقاتل.

٢ - حميد Benign: وهذا النوع من السرطان ليس لديه القدرة على الغزو الشامل والانتقال لمسافات بعيدة عن الموضع الأصلي، فهو محصور وموضعي ويقتصر، فقط، على الموضع الذي ظهر فيه ولا يسبب ضررًا وليس قاتلا إلا إذا تحول إلى النوع الخبيث.

وينشأ كل من نوعي السرطان طبيعيًا أو تجريبيًا عند حقن الحيوانات المعملية بالفيروس (في الكائن *in vivo*). أما الإصابة في المعمل *in vitro* فهي عند إصابة المزارع الخلوية Tissue cultures بوساطة فيروس مولد للسرطان وفيها يحدث تحول Transformation من خلية طبيعية إلى خلية سرطانية غير محكومة النمو. ومن ثم، فإن التحول هو سرطان على مستوى الخلية.

وفي حالة السرطان المستحث بالفيروس، تتبدل الخلية العادية إلى خلية سرطانية بوساطة الفيروس، وتستمر الخلية السرطانية في النمو والانقسام اللانهائي وتعد، بحد ذاتها، خلية سليمة. والخلية، مع ذلك، ليست وحدة مستقلة إنما هي جزء من الكائن. ويتحكم الكائن في نمو الخلايا العادية وتكاثرها وليست السرطانية والتي تسلك سلوكا مستقلا. والخلية السرطانية التي هربت بذلك من آليات التحكم في

الانقسام الخلوي تتكاثر إلى ما لا نهاية وتسبب موت الكائن. وعلى الرغم من ذلك، فإن الفيروس المولد للسرطان، يحور، فقط، الخلية ويقتل الكائن ومن ثم، فهو، لذلك يعتبر ممرضًا.

(٢٥,٣) خصائص الخلية السرطانية في المزرعة المتحولة

Characters of tumour cell in transformed culture

ينتج عن تحول الخلايا في المزرعة المصابة بفيروس سرطاني تغيرات في خصائص النمو والشكل والصفات الأخرى للخلية الورمية. ومثل هذا الاستحثاث بالفيروس والتغيرات التي تتم في الخلية المتسرطنة يمكن أن يحدث في الحيوانات التجريبية أو ما يشابهها وربما يكون هذا هو ما يحدث عند الإصابة الطبيعية بالفيروسات مولدة السرطان، وتلك التغيرات هي :

١ - تغيرات الشكل Altered morphology : إذ تختلف الخلية السرطانية عن الخلية العادية في الحجم والمظهر والتركيبات السيتوبلازمية والنووية، وتصبح الخلايا أكثر استدراة وأكثر كسرًا للضوء Refractive عند فحصها بالمجهر المقلوب. وقد ترجع استدارة الخلايا لتفكك الأكتين.

٢ - فقد تثبيط الاتصال Loss of contact inhibition : عندما تنمو خلايا الطبقة الواحدة Cell monolayer على جدار وعاء المزرعة الخلوية، فإنها تنقسم وتملأ الفراغات فيما بينها ثم تتصل ببعضها بعضًا وتملأ الفراغات وتكون طبقة كاملة الافتراش Confluent monolayer. وبمجرد أن تتصل الخلايا ببعضها بعضًا، تفرز مادة يقال لها عامل تثبيط الاتصال المثبط Contact inhibition factor الذي يثبط الانقسام الخلوي. وفقد هذه الخاصية في الخلايا المتحولة يسمح للأخيرة بأن تستمر في الانقسام لدى اتصالها مما ينتج عنه أنماط متقاطعة Criss-cross تتكوم Piling up في أكوام Heaps تسمى أورامًا صغيرة Microtumours (مواضع Foci). وتظهر هذه المواضع في مكان الخلايا المتحولة على خلفية Focus من طبقة واحدة من الخلايا غير المتحولة.

٣ - نقص الحاجة لكميات كبيرة من عوامل النمو الموجودة بالمصل: أي تحتاج كميات أقل من المصل مقارنة بما تحتاجه الخلايا العادية Low serum requirement.

٤ - تحوير النقل الداخل خلوي Modification of intracellular transport: وذلك فيما يخص مواد أيضية معينة والذي، بالتالي، يغير من الشحنة السطحية للخلية.

٥ - تغير في فسيولوجية الخلية Altered cell physiology.

٦ - زيادة القدرة على التلزن Increased agglutinability باللكتينات النباتية Plant lectins مثل كونكانافالين - أ Concanavalin A وملزن جنين القمح Wheat germ agglutinin.

٧ - النمو في الآجار Growth in agar: عند خلط الخلايا المتحولة مع وسط نمو يحتوي على آجار شبه صلب أو على كاربوكسي ميثيل سيليلوز Carboxy methyl cellulose (CMC)، فإنها تنمو وتنقسم بعد أن تستقر لتكون مستعمرات على حين أنه ليس للخلايا العادية القدرة على النمو تحت مثل هذه الظروف.

٨ - ظهور أنتيجينات (مستضدات) جديدة Appearance of new antigens: تكتسب الخلايا المتحولة أنتيجينات جديدة لا توجد، أصلا، في الخلايا العادية. وهذه الأنتيجينات هي: T (أنتيجين السرطان Tumour antigen) والذي يظهر مبكرا لبروتين غير تركيبي ويظهر على النواة، و TSAT (ويعني أنتيجين زرع الأعضاء النوعي للسرطان Tumour specific antigen) والذي ينشأ على الغشاء البلازمي للخلية. ويسبب TSAT طرد الأعضاء المزروعة Graft rejection عندما تحقن حيوانات بخلايا ورمية متحولة.

٩ - القابلية للاستزراع Transplantability: يمكن استزراع الخلايا المتحولة بسهولة في حيوانات مختلفة مع إنتاجية عالية للأورام.

١٠ - التحام (تكامل) دنا الفيروس Intergrated DNA: إن التحام ح ن د (دنا DNA) الفيروس مع ح ن د لأحد كروموسومات الخلية العائلة يعد أكثر الصفات أهمية. فإن دنا الفيروسي ومنتجات جيناته هي التي تبدأ في إحداث التحول وتحافظ عليه بالإضافة لإنتاج الأنتيجينات الورمية T-antigens في الخلايا المتحولة.

١١ - زيادة القدرة على النسل من خلية واحدة.
١٢ - زيادة القدرة على النمو في معلق.
١٣ - زيادة القدرة على مواصلة النمو أي تصبح مخلدة Immortal ولهذا السبب، يمكن نقلها وتمريرها Passaged في مزارع خلوية مستمرة، أي تكون خطوطا خلوية Cell lines.
١٤ - يحدث فيها تغيرات كيموحيوية Altered biochemical properties مثل:
أ - انخفاض مستوى أدينوسين أحادي الفوسفات الحلقي cAMP، بحيث إن إضافة cAMP يمكن أن يعيد الخلايا المتحولة الخبيثة إلى حالتها الطبيعية.
ب- تفرز الخلايا الخبيثة مُفَعِّل بلازمينوجين Plasminogen أكثر من الخلايا السليمة وهذا المفعل هو إنزيم بروتييز Protease الذي يحول بلازمينوجين إلى بلازمين Plasmin وهو الإنزيم الذي يحلل جلطة الفيبرين Fibrin.
ج- يؤدي إلى زيادة تحلل السكر هوائيا وزيادة إنتاج حامض اللبنيك Lactic acid.
د - فقد في بروتين سكري وزنه الجزيئي عال وهو فيبروتكتين Fibrotectin
هـ - تغيرات في المكونات السكرية للبروتينات السكرية Glycoproteins والدهون السكرية Glycolipids الموجودة بالغشاء البلازمي.

(٢٥,٤) الفيروسات التي تسبب سرطانا Viruses Causing Cancer

(٢٥,٤,١) فيروسات ح ن د (دنا) DNA Viruses

(٢٥,٤,١,١) فيروسات الجدري Poxviruses

يسبب العديد من فيروسات الجدري تكاثرًا طفيفًا في الخلايا الطلائية في عوائلها الطبيعيين. أما جدري الدجاج Fowlpox والجدري الرخوي المعدي Molluscum contagiosum، فإنهما ينتجان أورامًا كبيرة نوعًا ما في جلد الدجاج والإنسان على الترتيب. ويسبب فيروس يابا Yaba virus أورامًا حميدة تحت جلدية Subcutanious للقرود على حين يسبب فيروس فايبروما الأرنب Rabbit fibroma virus ورمًا ليفيًا حميدًا للأرانب.

(٢٥,٤,١,٢) الفيروسات القوبائية Herpesviruses

ويوجد، على الأقل، ٥ أنواع مختلفة من الفيروسات القوبائية ترتبط بسرطانات طبيعية في الحيوانات والإنسان هي:

أ - مرض ماريك في الدجاج Marek's disease of chicken، ويسببه فيروس مرض ماريك Marek's disease virus (MDV) الذي يتكشف إلى نموات ليمفاوية جهازية Generalized lymphoblastosis وغزو ليمفاوي لعصب الجذع وشلل، والمرض شديد العدوى مع نسبة إماتة عالية في الدواجن Poultry.

ب - فيروس الضفادع لوكيه Luke's Frog virus: يسبب سرطان الكلى Kidney carcinoma.

ج - فيروس قوباء سيماري Herpes Saimari virus: يسبب مرض لوكيميا ليمفاوية Lymphatic leukemia سريع القتل (يصيب خلايا - ت).

د - فيروس إبشتاين وبار Epstein-Barr virus: يسبب مرض وحيدات النواة المعدي Infectious mononucleosis في الإنسان (مرض التقبيل) ولكنه يتكشف، أيضًا، إلى ليمفومابيركيت Burkitt's lymphoma (في أفريقيا السوداء) وسرطان الأنف بلعوم Nasopharyngeal carcinoma (في جنوب شرق آسيا).

(٢٥,٤,١,٣) فيروسات أدنو Adenoviruses

يوجد أكثر من ٤١ نوعًا مصليًا Serotypes من فيروسات الغدد (أدنو) التي تصيب الإنسان وأعداد غيرها تصيب الحيوانات. وبعض هذه الفيروسات يعطي أورامًا عندما تحقن في الحيوانات. وقد ظهر أن القدرة على توليد السرطان Oncongenicity تختلف حسب نوع الفيروس، كما أن تسعة أنواع مولدة للسرطان خاصة أنواع ١٢، ١٨، ٢١ عندما تحقن في الفئران حديثة الولادة كما أنها تحول خلايا في المعمل من الهامستر Hamster والجرذ والأرنب والإنسان. والمجين (Genome) الفيروسي وزنه الجزيئي ٢٣×١٠^{٦} دالتون وهو من ح ن د طولي مزدوج الخيط ولكنه

يتحلق Circularizes في الخلايا المصابة ولكن منطقة لا تتعدى ١٠٪ منه هي التي تلتحم - على عكس فيروسات بابوفا التي يندمج مجينها بالكامل - ومع ذلك، فإنها تسبب التحول. وتشفر هذه المنطقة لبروتينات عديدة أحدها هو المستضد T (ورم = Tumour). والأنتجين (المستضد) T للفيروس الغدي ضروري للتحول، وهو مختلف أنيتجينيًا عن مستضداتT لفيروس الأورام العديدة Polyoma وفيروس SV-40.

(٤ ,١ ,٤ ,٢٥) فيروسات بابوفا Papovaviruses

وتضم عائلة بابوفا فيروسات تسبب سرطانًا للإنسان وللحيوان ومنها فيروسات الثآليل (بابيللوما Papilloma) وفيروس عديد الأورام (بوليوما Polyoma) وفيروس القرود - ٤٠ Simian virus 40 (SV-40).

أ - فيروس الثآليل (بابيللوما) Papilloma virus

وهذا الفيروس يسبب ثآليل (Warts = أورامًا).

ب - فيروس بوليوما عديد الأورام Polyoma virus

يتوطن فيروس عديد الأورام (Poly = عديد، Oma = ورم) في مستعمرات الفئران ولكنه لا يسبب سرطانًا طبيعيًا في الفئران. ويلزن الفيروس خلايا الدم الحمراء لخنزير غينيا، ويمكن أن يعاير بوساطة تكوين الروائق Plaques في مزرعة نسيجية لجنين الفأر، وهو يحول خلايا الهامستر.

جـ - فيروس القرود - ٤٠ SV-40 (Simian virus-40)

لقد اكتشف فيروس القرود - ٤٠ (SV-40) وعزل لأول مرة تحت مجموعة غريبة من الظروف، ففي منتصف خمسينيات القرن العشرين، وعندما أثبت فيروس سولك Salk المثبط لشلل الأطفال فعاليته، كان على الشركات الدوائية التي رخص لها بإنتاجه أن تبحث عن طريق لتنمية كميات Patches كبيرة من فيروس شلل الأطفال

التي يمكن أن يحضر منها اللقاح. ويتكاثر فيروس شلل الأطفال، فقط، في خلايا البشر والقرود. وقد رأى المختصون، آنذاك، عدم إستخدام الخطوط الخلوية البشرية مخافة أن تكون ملوثة بفيروسات ومن ضمنها فيروسات قد تسبب السرطان. ولم يبق أمامهم إلا استعمال خلايا القرود وبالذات الخلايا الابتدائية وقد استخدمت لذلك كلى قرود الريص Rhesus (*Macaca cynomolgus*). ويتكاثر فيروس شلل الأطفال في هذه المزارع الخلوية ثم يقتل الخلايا، وبعد ذلك، يرشح المحلول ترشيحًا عاليًا ثم يعامل بالفورمالين لتثبيط الفيروس. وقد اختيرت جرعات الفيروس هذه لتحديد: ١ - هل تظهر استجابة مناعية؟، ٢ - هل تسبب أي مرض عندما تحقن في القرود (أي هل لا يزال أي فيروس متبقيًا أو ميتًا؟) ٣ - هل يتكاثر الفيروس عندما يحضن مع خلايا القرد في المزرعة؟، ٤ - هل ينشأ أي مرض عندما يحقن الفيروس في أنواع أخرى من الحيوانات مثل الفأر والهامستر والأرنب وهكذا؟.

وقد جاءت الاختبارات بنتائج سلبية لكونها أجريت لفترات زمنية محدودة، وكانت الاستجابة المناعية جيدة. وبناء على ذلك، أعطي اللقاح لآلاف البشر وتم توسيع الإنتاج من أجل التطعيم على نطاق واسع جدًا يشمل كل العالم. عندئذ، ظهر ما لم يكن بالحسبان، وهو أن بعض الهامستر التي استخدمت في التجارب السابقة وبقيت لفترة طويلة، وكانت قد حقنت عند ميلادها بلقاح شلل الأطفال المثبط، بدأت تظهر نموات ورمية.

وقد كانت فترة الكمون Latent period بين ظهور الورم والوقت الذي اكتشف فيه لأول مرة تتباين ما بين ١٣٠-٣٢٧ يومًا بعد الحقن وكان المتوسط ٢٣٠ يومًا ولم يكتشف في هذه الأورام أي فيروس، لكن مصل الحيوانات التي ظهر فيها الورم احتوى على أجسام مضادة أمكنها اكتشاف أنتيجينات الورم. والغريب أن فيروس القرود هذا (SV- 40): لا يقتل خلايا المزرعة، لكنه ينتج نظامًا غريبًا من الفجوات Vacuolation (تكوين فجوات) فيها، ولهذا سمي فيروس القرود

الفجوي - ٤٠ Simian vacuolating virus - 40 (SV-40). والغريب في الأمر أن الفورمالين الذي يقتل فيروس شلل الأطفال لم يقتل فيروس SV-40. ولقد ظهرت آثار هذا الفيروس في الأطفال الذين طعموا باللقاح كإفراز فيروس SV-40 في البراز والبول كما أنهم قد صنعوا أجسامًا مضادة للفيروس. وإن كان هؤلاء الأطفال قد توبعوا لما يزيد على ٣٠ عامًا، إلا أن أحدًا منهم لم يظهر عليه السرطان. غير أن بعض أفراد الهيئة العلمية التي كانت تعمل بالمعامل وتناولوا SV-40 باستمرار ماتوا من السرطان، ولم يوجد أي من ح ن د (دنا) الفيروس في أنسجتهم. ولا يوجد دليل حتى الآن بارتباط هذا الفيروس بسرطان في الإنسان. ولماذا يسبب SV-40 سرطانًا في القوارض وليس في الإنسان؟، هذا أمر محير!

(٢٥,٤,٢) فيروسات ح ن ر (رنا – RNA Viruses (RNA

تختلف فيروسات ح ن ر المولدة للسرطان في عدة طرق عن فيروسات ح ن ر التي سبق وصفها. إذا إن للخلايا المتحولة بفيروسات ح ن ر القدرة على أن تستمر في إنتاج دقائق فيروسية معدية. وأيضًا، فإنها كلها تتبع عائلة واحدة هي العائلة العكسية (الرجعية = القهقرية) Retroviridae، وأنها تسبب تأثيرًا مرضيًا خلويًا CPE، كما أن إنتاج الدقائق الفيروسية أصبح وظيفة إخراجية للخلايا المتحولة.

وتضم هذه العائلة فيروسات تسبب السرطان في الطيور والفئران وفي القطط وفي الإنسان.

(٢٥,٤,٢,١) فيروسات ح ن ر الورمية في الطيور Avian RNA Tumour Viruses

أ – فيروس لوكيميا الطيور Avian Leukosis Virus.

ويسبب مرضًا سرطانيًا Neoplastic في الدجاج في جهاز إنتاج وحدات الدم Haemopoietic system، أي سرطانًا في أمهات الخلايا اللمفية Lymphoblastosis

وسرطانا في أمهات خلايا الدم الحمراء Erythroblastosis وسرطانا في خلايا نخاع العظام Myeloblastosis، وتصخر العظم Osteopetrosis وأوراما صلبة Solid tumours، مثل: ساركوما Sarcoma (ورم خلايا النسيج الضام) وكارسينوما Carcinoma (ورم الخلايا الطلائية) وسرطان الخلايا الشبكية Endothelioma.

وإصابة الدجاج المنزلي باللوكيميا Leukosis شائعة وواسعة الانتشار والمرض يكون، غالبًا، بدون أعراض، فيما عدا السرطان الليمفاوي الحشوي Viscaral lymphomatosis، كما أنه يسبب خسائر في صناعة الدواجن.

ب – فيروس ساركوما راوس Rous sarcoma virus

ويسبب هذا الفيروس ساركوما سرطان صلب في الدجاج. وقد اكتشف هذا الفيروس بيتون راوس عام ١٩١١م، والذي وجد أن الراشح الخالي من فيروس سرطان الدجاج قد أنتج سرطانات صلبة عندما حقن في الدجاج. ويمكن أن يعاير الفيروس في المعمل بوساطة إنتاج مواضع تشبه الأورام Tumour-like foci نتيجة لتحول Transformation خلايا الطبقة الواحدة من الخلايا الليفية Fibroblasts لجنين الدجاج. وينتج فيروس ساركوما رواس أورامًا في الأرانب والفئران وخنازير غينيا والهامستر والقرود.

ويوجد دليل واضح على أن كل الخلايا المتحولة بوساطة فيروس ساركوما راوس سرطانية خبيثة Malignant بمعنى: أنها قادرة على إنتاج أورام منتشرة Metastasizing tumours في الدجاج. ومن الغريب أن الأورام المستحثة بوساطة فيروس ساركومة راوس RSV تعطي في الدجاج فيروسات باستمرار، على حين لا تعطي تلك التي يسببها نفس الفيروس في الثدييات.

(٢,٢,٤,٢٥) فيروسات لوكيميا الفئران Murine leukoviruses:

هذه هي الفيروسات التي تسبب لوكيميا في الفئران مثل فيروسات فرايد Fried ومولوني Moloney وروسشر Rauscher. وتتكاثر هذه الفيروسات في المزارع الخلوية

بدون تأثير مرضي خلوي، ومع ذلك، يمكن الكشف عنها بوساطة: ١ - تثبيت العامل المتمم (المكمل)، ٢ - الانتشار المناعي، ٣ - قياس الجسم المضاد الوميضي، ٤ - قياس إنزيم بلمرة ح ن د - المعتمد على ح ن ر RNA-dependent DNA polymerase.

(٢٥,٤,٢,٣) فيروس سرطان الثدي في الفأر Mouse mammary tumour virus

ويسبب هذا الفيروس سرطانًا في الأثداء كما ظهر أنه ينتقل عن طريق لبن الأم، وتوجد الدقائق الفيروسية بكميات كبيرة في نسيج الثدي العادي، وكذلك في لبن سلالات خاصة من الفئران يتكشف لديها سرطان الثدي بمعدل عال. لذا، فإن تكشف سرطان الثدي بوساطة فيروس سرطان الثدي في الفئران يعتمد على: ١ - وجود الفيروس، ٢ - احتياج هرموني، ٣ - الاستعداد الوراثي.

(٢٥,٥)الفيروسات السرطانية في الإنسان Oncogenic Human Viruses

يوجد، على الأقل، ٨ أنواع من الفيروسات التي يعتقد بأنها عوامل مسببة Aetiological agents للسرطان في الإنسان، أو أنها تمتلك خواص مولدة للسرطان تحت ظروف تجريبية. وتشمل هذه الفيروسات السرطانية ما يلي:

(٢٥,٥,١) فيروس الالتهاب الكبدي — ب Hepatitis B virus: وهو يتبع عائلة Hepadnaviridae ويسبب سرطان الكبد Hepatocellular. ووجود إصابة مشتركة سواء من فيروس الالتهاب الكبدي ج HCV، أو من فيروس الالتهاب الكبدي د HDV تزيد من معدلات سرطان فيروس ب.

(٢٥,٥,٢) فيروس إبشتاين وبلر Epstein - Barr virus: وهو يتبع العائلة القوبائية Herpsoviridae، إذ يسبب ليمفوما بيركيت Burkitt's lymphoma والليمفوما المناعية Immunoplastic lymphoma وسرطان الأنف - بعلوم Nasopharyngeal carcinoma.

(٢٥,٥,٣) فيروس القوباء البسيط نوعا ١ و ٢ Herpes simplex types 1, 2: من العائلة القوبائية Herpesviridae: وهو يحتمل أن يرتبط بأورام عنق الرحم Cervical neoplasia.

(٢٥,٥,٤) فيروس مضخم الخلايا Cytomegalovirus: وهو تابع، أيضًا، للعائلة القوبائية Herpesviridae، ويسبب سرطان كابوزي Kaposi's sarcoma، ويحتمل أن يسبب سرطان البروستاتا Prostatic neoplasia.

(٢٥,٥,٥) فيروس التآلل الحلمي Papilloma virus: ويتبع عائلة بابوفا Papovaviridae ويسبب ثآليل Warts وسرطان عنق الرحم Cervical neoplasia وسرطان الجلد.

(٢٥,٥,٦) فيروسات بوليوما وجيه – سي وبي–كي Polyoma, JC and BK viruses: وتتبع، أيضًا، عائلة بابوفا Papovaviridae، وقد تكون مسئولة عن أورام عصبية.

(٢٥,٥,٧) فيروس أدنو Adenovirus: ويتبع عائلة Adenoviridae، ومنه أنواع ٢، ٥، ١٢.

(٢٥,٥,٨) فيروس لوكيميا خلية – ت البشري نوعا ١، ٢

Human T-cell leukemia virus types 1 & 2 (HTLV-1 and 2)

ويتبعان العائلة العكسية، وهي العائلة الوحيدة من فيروسات ح ن ر RNA التي تسبب سرطانا. ويسبب فيروس HTLV-1 لوكيميا / ليمفوما في خلية - ت للبالغين Adult T-cell leukeia / lymphoma.

(٢٥,٦) آليات التولد السرطاني الفيروسي Mechanisms of viral oncogenesis:

لقد أصبح من المؤكد أن الإصابة الفيروسية على مستوى الخلايا أو الكائن الحي التجريبي أو الكائن الحي في الطبيعة يمكن أن تسبب (أو تترافق مع) السرطان. وعكف العلماء على استجلاء الطبيعة الفيروسية التي تسبب تولدًا للسرطان، على حين يتكاثر الفيروس ثم يدمر الخلية - في أغلب أنواع الإصابة، ويتركها ليحدث عدوى جديدة،

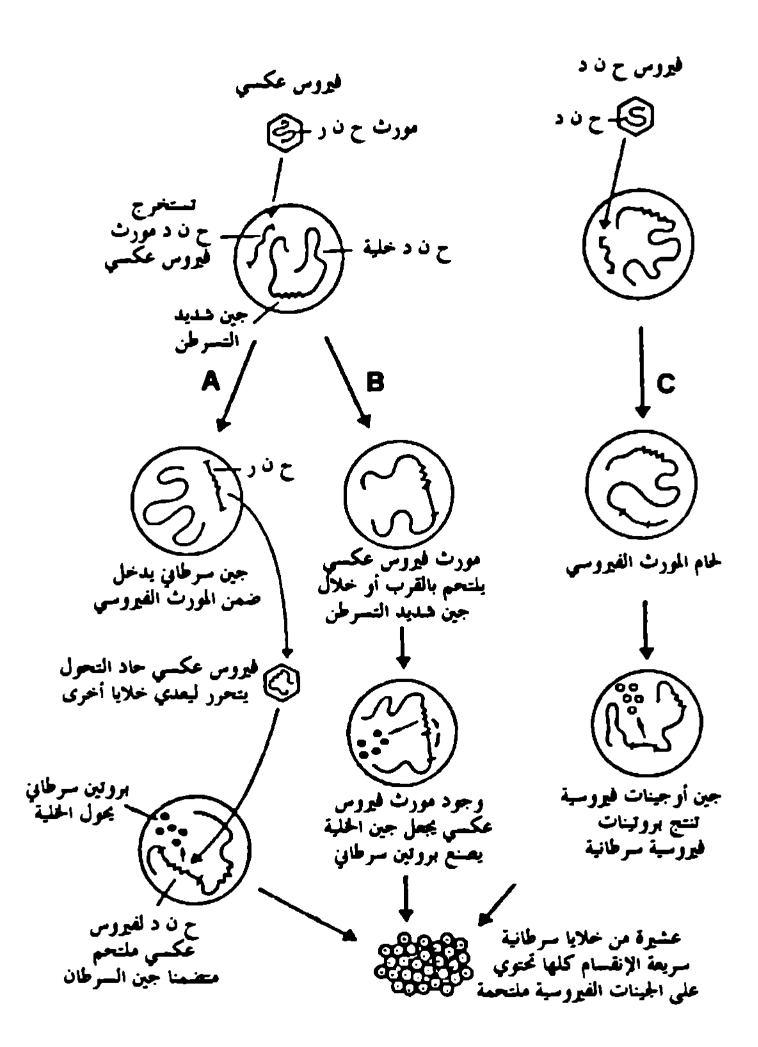
وهكذا. والسؤال المطروح الآن هو: هل وجود الفيروس المستمر بالخلية شرط أساسي للتسرطن؟ أم يكفي وجوده لفترة؟ وهل يبقى الفيروس أو جزء منه لضمان التحول السرطاني؟ وهل يمكن للفيروس أن يتكاثر في الخلية ثم يحدث سرطانًا في آن واحد. وما الآليات التي يمكن أن يفسر بها حدوث السرطان الذي تسببه أنواع الفيروسات المختلفة، الشكل رقم (٥٢).

(٢٥,٦,١) دور الفيروسات السرطانية في التحول الخبيث:

إن التحول السرطاني الخبيث هو تغير دائم في سلوك الخلية يجعلها تنقسم باستمرار ودون أي تحكم. ولكن، هل يجب أن تكون المادة الوراثية الفيروسية موجودة وتعمل كل الوقت، أم أنها تستطيع أن تغير بعض المكونات الخلوية ولا تعود مطلوبة بعد ذلك؟ وقد حصل على إجابة هذا التساؤل باستخدام طفرة حساسة للحرارة Temperature sensitive mutant من فيروس ساركوما راوس RSV. وتمتلك هذه الطفرة مورثة سرطانية Oncogene تعمل عند درجة حرارة سامحة Permissive هي ٣٥° م ولا تعمل عند درجة حرارة مانعة وغير سامحة Non-permissive وهي ٣٩° م. وعندما أحدثت إصابة لخلايا الدجاج بهذا الفيروس المتطفر عند ٣٥° م حدث تحول سرطاني كما هو متوقع، ولكن عندما نقلت هذه الخلايا المتحولة وحضنت عند ٣٩° م استعادت شكلها وسلوكها الطبيعيين خلال ساعات قليلة. وعندما أعيدت الأخيرة بعد أيام أو أسابيع إلى درجة ٣٥° م عادت الخلايا إلى شكلها السرطاني السابق.

(٢٥,٦,٢) الفيروس الأولي والمورثات السرطانية Proviruses and oncogenes:

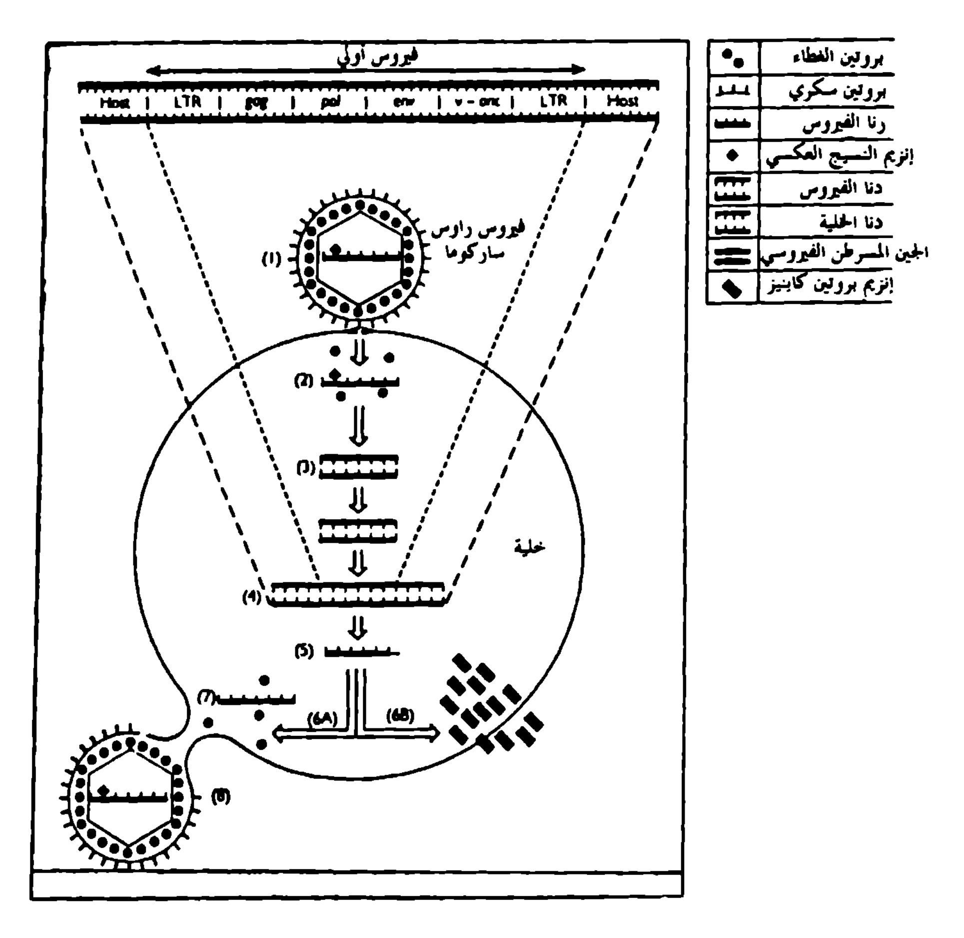
الفيروس الأولي Provirus هو المادة الوراثية الفيروسية التي تتحرر من الدقيقة الفيروسية بعد إصابة الخلية، والتي يحدث لها التحام Integration وتتكامل كجزء من المادة الوراثية للخلية، ويعبر عنها كما يعبر عن المادة الوراثية للخلية، ولا يوجد الفيروس حرًا ولكن في شكل مادته الوراثية، لذا يطلق عليه اسم فيروس أولي، كما أن وجود الفيروس الأولي بهذه الحالة هو الذي يسبب السرطان أو التحول السرطاني.



الشكل رقم (٥٢). يوضح ثلاثة طرق يمكن أن يحدث بها الفيروس السرطان.

أما المورثات السرطانية Oncogenes ، فهي مورثات خلوية Cellular genes من ضمن المادة الوراثية للخلية ، أصلا ، ولكنها تشذ في طبيعتها وتؤدي لحدوث السرطان تحت ظروف معينة. والفيروسات التي تلتحم بمادتها الوراثية مع المادة الوراثية للخلية

وتسبب سرطانًا فيها عادة ما تحمل جينًا مسرطنًا ويطلق عليه الجين المسرطن الفيروسي Viral oncogene واختصاره .V. onc، كما وجد في فيروس ساركومة راوس RSV (انظر الشكل رقم - ٥٣) والذي يطلق عليه أحيانًا Src oncogene. وقد تمكن ستهلين



الشكل رقم (٥٣). التحام وتكامل لفيروس لساركوما راوس الأولي Rous Sarcoma provirus والجين المسرطن مع ح ن د لخلية العائل (عن Collier و Oxford ١٩٩٣م).

Stehlin وزملاؤه عند بحثهم عن هذا الجين أن يجدوا في خلايا عادية من الطيور والأسماك والثدييات جينًا مناظرًا لـ Src. ومع أنه يختلف قليلا في التركيب الجزيئي، إلا أنه يشفر

لنفس البروتين كاينيز Protein kinase ، والذي يقوم بفسفرة البروتينات ومن ثم ، تغيير تركيب ونشاط بروتينات خلوية يكون لها الدور الأساسي في التحول والنشاط السرطاني. وأحيانًا، يطلق على الجينات الخلوية المسرطنة جينات سرطانية أولية Protooncogenes ، أو اختصارا C-oncogenes (.c-onc). ويبدو أن بعض الفيروسات اصطادت أثناء التطور (قامت بالتوصيل Transduced) بعض جينات العائل ، والتي كانت تساهم في نشاطات عادية في الخلية بوجودها في العائل ، لكن ، بوجودها ضمن المادة الوراثية للفيروس ، قد تسلك سلوكًا مغايرًا عندما تصيب هذه الفيروسات خلايا أخرى. وتوجد هذه الجينات الخلوية المولدة للسرطان Cellular oncogenes في الخلايا الأمية Germ cells في الحيوانات الثديية والطيور والأسماك وحتى في الحشرات.

كيف يمكن للجينات الخلوية المولدة للسرطان أن تكون مولدة للسرطان؟ حيث إن هذه الجينات توجد بمعدلات عالية فما الإجابة ، إذن؟.

نعم تسبب سرطانًا ولكن تحت مؤثرات من بينها : .

١ - يبين (الشكل رقم ٥٤) الفيروس الأولي بجيناته جاج (gag) وبول (po) وإنف (env) مغروزة في ح ن د الخلوي والجينات مضففة Flanked بتتابعات متكررة من النيوكليوتيدات (تسمى تكرارات طرفية طويلة Long Terminal Repeats (LTR) تؤدي وظيفة تنظيمية. إن غرز التكرارات الطرفية الطويلة LTR's الفيروسية قد ينشط الجين المولد للسرطان الخلوي (c-onc) المجاور ، وبذا يحدث ، مباشرة ، تحولاً سرطانيا في خلية العائل.

Host DNA | LTR | gag | pol | env | LTR → c-onc | Host DNA

الشكل رقم (٥٤). تنشيط الجين المسرطن الخلوي بغرز مولدات التطفير Mutagenesis.

٢ - قد تستحث المواد المسرطنة Carcinogens مثل الإشعاع Radiation ومختلف الكيميائيات Chemicals - بما فيها النيكوتين - طفرات مولدة للسرطان وقد تكون

هذه الطفرات صغيرة. فقد أمكن، تجريبيًا، جعل جين c- onc مولدًا للسرطان عن طريق تغيير قاعدة واحدة في ح ن د الخاص، أي بعمل طفرة نقطية Point mutation.

ومن الطرق الأخرى التي يمكن أن تعمل بها الجينات الخلوية هي الفقد Loss أو طفرة في جين مثبط النمو Growth suppressor gene، والذي تكون وظيفته التحكم في تكاثر الخلية Cell proliferation أي أنه عندئذ، ينشط الجين السرطاني الخلوي وتتكاثر الخلايا.

(٢٥,٦,٣) النظريات والآليات التي تفسر دور الفيروسات في إحداث السرطان:

تختلف النظريات والآليات التي تفسر دور الفيروسات في إحداث السرطان، ومنها:

(٢٥,٦,٣,١) عطب غير نوعي في النسيج يستحث التكاثر

:Non-specific tissue damage inducing proliferation

في الخلايا التي تتكشف إلى أورام يمكن الكشف عن وجود المجين (المورث = Genome) الفيروسي أو جزء منه في كل خلية ورمية. وهذا يعني أن معلومات وراثية فيروسية نوعية تكون مهمة من أجل أن يحدث الفيروس سرطانا في الخلايا.

(٢٥,٦,٣,٢) مطفرات تضرب وتجري Hit - and run' mutagens:

في الحالات التي لا يمكن أن يكشف فيها عن وجود المورث (المجين) الفيروسي في الخلايا السرطانية، إذ يعتقد أن خلية سابقة على السرطان Pre-cancerous كانت سلفًا Ancestral لورم وأنها عندما أصيبت بالفيروس سبب فيها، بالتالي، طفرة، تماما مثلما يحدث من العوامل الفيزيائية أو الكيميائية المولدة للسرطان، فإنها تفعل ذلك دون أن تبقى في النسيلة السرطانية.

(٢٥,٦,٣,٣) الفيروسات السرطانية كمطفّرات غَرْز

Tumour viruses as insertional mutations:

يتكامل ويلتحم ح ن د (دنا) للفيروسات الرجعية (العكسية) Retroviruses وفيروسات هيبادنا Hepadnaviruses وبعض فيروسات بابوفا Papovaviruses مع ح ن د لكروموسوم خلية العائل. ويعد الالتحام Integration حادثة معاودة ارتباط Recombinational event من شأنها أن تحدث إعادة تنظيم Reorganization في المعلومات الوراثية. ويعد التحام المورث الفيروسي مع واحد من كروموسومات الخلايا حادثة عشوائية في معظمها، بمعنى أنه يلتحم عند مواضع مختلفة، وعادة، في كروسومات مختلفة من نفس الخلية. إن التحام فيروس بوليوما Polyoma virus يكون مولدًا للطفرة Mutagenic ويسبب كسورا Breaks ومعاودة ترتيب Rearrangements، أيضًا. أما الفيروسات العكسية الطيرية Avian retroviruses التي تسبب ليمفوما في جيب فايريشيا Bursal lymphoma، فإنه يوجد دليل بأن التحام الجين (المورث Genome) الفيروسي فيها يكون مجاورًا للجين c-mys بادىء مولد السرطان c-mys protooncogene، إذ يحسن أو ينشط التعبير عن الجينات الخلوية، ويناظر هذا ما يحدث لنقل Translocation نفس الجين بالنسبة لليمفومابيركيت Burkitt's lymphoma التي يسببها فيروس إبشتاين ويار في الأفريقيين السود.

(٢٥,٦,٣,٤) الجينات الفيروسية المولدة للسرطان Viral oncogenes:

إن بعض الفيروسات المولدة للسرطان الحاد من الفيروسات العكسية تحمل جينات مولدة للسرطان من أصل العائل في مكان جينات التكاثر العادية للفيروس. وهذه الجينات ليست مطلوبة لتكاثر الفيروس، وفي الواقع، فإنها تجعل الفيروس منقوصًا Defective لكنها تستحث التحول السرطاني السريع للخلية.

وعلى النقيض من الفيروسات العكسية، فإن فيروسات بابوفا وفيروسات أدنو تشفر Codes لبروتينات فيروسية تكون مطلوبة في دور مبكر للتحول الخلوي، بمعنى أن جيناتها المولدة للسرطان Oncogenes تكون أساسية للتكاثر الفيروسي.

الفصل السادس والعشرون

فيروسات البكتيريا
Bacterial Viruses
(البكتيريوفاجات)
(Bacteriopages)

(٢٦,١) اكتشافها وتطورها:

لقد اكتشفت فيروسات البكتيريا لأول مرة عن طرق الصدفة، فقد حاول الطبيب الانجليزي تورت Twort عام ١٩١٥م، زراعة فيروس جدري الإنسان Smallpox virus من قيح بثرة أخذت من أحد المرضى بالجدري، وذلك بمسحها على طبق به وسط آجار مغذٍ مما يستخدم في زراعة البكتيريا، وللأسف الشديد، لم ينم فيروس جدري الإنسان على الإطلاق، لأنه يحتاج إلى خلايا حية أو من الإنسان ذاته، وبدلا من ذلك، نمت بكتيريا كانت ملوثة للبثرة وهي بكتيريا عنقودية *Staphylococcus* . ولكن تورت لم تحجب خيبة الأمل من أن تنفذ عقليته العلمية الموهوبة إلى ما شاهده؛ فقد لاحظ أن النمو البكتيري المعتم Opaque تتخلله مساحات صغيرة شفافة وزجاجية. وعندما كشط هذا النمو البكتيري بما تحتويه من مساحات شفافة أجرى به إعادة زرع Subculture من جديد ولاحظ ظهور نفس المساحات الصغيرة الشفافة (روائق Plaques). وبإعادة زراعة البكتيريا المحتوية على هذه المساحات الشفافة والتي سميت فيما بعد روائق = Plaques لاحظ أن أعداد هذه الروائق تزداد وتلتحم معًا ويختفي النمو البكتيري بعد أن تحللت Lysis البكتيريا.

وفي عـامي ١٩١٦، ١٩١٧م، بـدأت دراسـات وأبحاث فيلكس ديريـل Felix d'Herelle وهـو طبيب فرنسي، أيضًا، تخصـص في علـم البكتيريـا ودرس الطـب في باريس ومدرسة طب القصر العيني بالقاهرة وهاجر إلى كندا، حيث استمر هنـاك وأنشيء من بعده، تخليدا له، أكبر مركز لدراسة فيروسات البكتيريا في العالم.

لقد اكتشف ديريل وهـو يقوم بزراعة البكتيريا العصوية المسببة للدوسنتاريا *Bacillus dysentrae* أن حصيرة نمو البكتيريا المعتمة تتخللها مساحات شفافة زجاجية ورائقة وهي ما نطلق عليه الآن الروائق. وأثبت أن هـذه الروائق تزداد عنـد إعـادة الاستزراع لدرجة أنها أكلت النمو البكتيري تمامًا. لذلك، قام بعمل ترشيح عـال لهـذه النموات البكتيرية المحتوية على هذه الظاهرة الغريبة وعندما زرعها مع البكتيريا ظهرت الروائق متناسبة مع التركيز، ولـذا أطلق عليها اسم لاقمات أو آكلات (ملتهمات) البكتيريا Bacteriophages أو Bacterial eaters أي بكتيريوفاجات.

أمـا أول مـرة يعـزل فيـها لاقـم بكتيريـا، فكـان ذلـك علـى يـد شـلينرنجر Schlesinger عندما عزل فـاج دبليو -٢ (WII) عـام ١٩٣٣م. وفي عـام ١٩٣٩م، تمكـن ديلبروك Delbruck من اكتشاف طفـرات Mutations في فـاج البكتيريا. وباكتشـاف المجـهر الإلكـتروني في أوائل الأربعينيـات، ظـهرت أشـكال فاجـات البكتيريـا، وغـيره مـن الفيروسات، مما ساعد في وصفها. وقد تمكن لوريا Lauria وغـيره منـذ ١٩٤٢-١٩٤٨م من اكتشاف عملية التكاثر Replication في فيروسات البكتيريا.

وفـي عــام ١٩٦٣م اكتشــف سـافرمان ومــوريس Safferman and Morris فيروسـات البكتيريـا الخضـراء المزرقـة "سيانوفاج Cyanophages". أمـا ليدربـرج وزنـدر Lederberg and Zinder، فقد بينا ظاهرة التوصيل الوراثي Genetic transduction عندمـا تنقل فاجات بكتيريـا معينـة مـادة وراثيـة مـن خليـة بكتيريـة وتوصلـها إلى خليـة بكتيريـة أخرى، فتكتسب الأخيرة صفات وراثية جديدة كانت خاصة بالبكتيريا المنقولة منها.

وفي عام ١٩٥٢م، تمكنت مارثا تشيس Martha Chase وألفريد هيرشي Alfred Hershy من إثبات أن المادة الوراثية في الكائنات الحية هي الحامض النووي Nucleic acid

وليس النيوكولين Nuclein (الحامض النووي والبروتين) حيث استخدما الفاج ت -٢ (T2) الذي يصيب البكتيريا القولونية *Escherichia coli*. وعندما أجريا تشعيعا Labeling للحامض النووي ح ن د DNA في الفاج بوساطة الفوسفور المشع P^{32}، أما تشعيع بروتين الفاج الموجود بالرأس فقد رقماه بالكبريت المشع ^{35}S. وعند عمل إصابة بهذا الفاج المشع بوضعه على خلايا البكتيريا القولونية، ظهر أن المادة المشعة التي دخلت وتكاثرت داخل البكتيريا كانت ح ن د DNA المشع بالفوسفور الثقيل، أما الكبريت الثقيل فقد بقي في الشبح Ghost الذي يمثل بقايا رأس وذيل فاج البكتيريا خارج الخلية المصابة. كذلك فقد ثبت أن الذي يتكاثر إنما هو الحامض النووي الفيروسي عندما تم حساب توزيع المادة الوراثية المشعة.

وفي عام ١٩٥٣م، استطاع واطسون وكريك Watson & Crick، واستمرارًا من هذه النتائج، التوصل إلى نموذج بناء وتكاثر ح ن د DNA للمادة الوراثية. أما لوف Lowff وولمان Wollman فقد اكتشفا في عام ١٩٥٣م فاجات هادئة Temperate phages أي لا تقتل الخلايا المصابة مثل الفاجات الشرسة Virulent phages.

وكما هو الحال بالنسبة للمجموعات الكبرى الأساسية من الفيروسات، فإن مجموعة فيروسات البكتيريا Bacteriophages تتميز بوضع فريد في أشكالها وطرق إصابتها وتفاعلاتها مع أنواع البكتيريا التي تصيبها.

(٢٦,٢) تخصص العائل: Host specificity:

تتميز الفيروسات عامة وفيروسات البكتيريا، خاصة، بتخصص عال بالنسبة للعائل الذي تصيبه. فالفيروسات البكتيرية تتخصص، أحيانًا، على مجموعة Group معينة من مجاميع البكتيريا مثل البكتيريا الزرقاء Cyanobateria أو الاكتينوميسيتات Actinomycetes أو الركتسيا Rickettsia أو المايكوبلازما Mycoplasma أو البكتيريا الحقيقية True bacteria. ولذا، فإن الفيروسات التي تصيب مجموعة من أنواع البكتيريا السابقة لا تصيب مجموعة أخرى.

ومن الجدير بالذكر أن هذا التخصص ليس، فقط، على مستوى المجاميع الكبرى للبكتيريا ولكن يظهر، أيضًا، بين أنواع المجموعة الواحدة إذ توجد فيروسات بكتيرية متخصصة في إصابة جنس واحد، فقط، Genus من الأجناس Genera: مثل ستافيلوكوكاس *Staphylococcus* أو سالمونيللا *Salmonella* أو سيدوماناس *Pseudomona* أو زانثوموناس *Xanthomonas* أو أزوتوباكتر *Azotobacter* أو بروتياس *Proteus* أو إيشيريشياكولاي *E. coli* أو ستربتوكوكاس *Streptococcus* أو أجرو بكتيريام *Agrobacterium* أو باسيللاس *Bacillus* أو نوستوك *Nostoc* أو أنابينا *Anabena* أو مايكوبلازما *Mycoplasma* أو ستربتوماسيس *Streptomyces* أو نوكارديا *Nocardia* أو رايزوبيام *Rhizobium*...إلخ.

إذ يصاب كل جنس من هذه الأجناس وغيرها بواحد أو بالعشرات من فاجات البكتيريا التي لا تصيب أي جنس سواه.

ولا يتوقف مستوى تخصص لاقمات البكتيريا عند مستوى الجنس، بل نجد أن هذه الفيروسات التي تصيب جنسًا بعينه إنما تظهر تخصصًا أعلى عندما نجد أنها تصيب نوعًا Species من هذا الجنس دون غيره.

فالفيروسات التي تصيب نوع البكتيريا العقدية من جنس الرايزوبيام *Rhizobium* الخاص بالبسلة غير تلك التي تصيب رايزوبيام الحندقوق Mellilotus أو اللوبيا Cowpea أو فول الصويا Soybean. كذلك اللاقمات التي تصيب جنس *Staphylococcus* من نوع أورياس *S. aureus* غير التي تصيب نوع إبيدرميديس *S. epidermidis* وغير التي تصيب سابروفيتكياس *S. saprophyticus*.

كذلك الفاجات التي تصيب جنس ستربتوكوكاس *Streptococcus* من نوع ميوتانز *S. mutans* والمسبب لتسوس الأسنان غير نوع نيمونيي *S. pneumoniae* المسبب للالتهاب الرئوي أو لاكتيز *S. lactis* أو بيوجينيز *S. pyogenes* أو فيريدانز *S. viridans*. كما يظهر هذا التخصص، أيضًا، على مستوى أنواع جنس باسيللاس *Bacillus* مثل نوع سيرياس *B. cereus*، ومايكويدز *B. mycoides* وستياروثرموفيلاس

B. stearothermophilus وسبتلس *B. subtilis*، وأنثراسيز *B. santhracis* وسفيريكاس *B. sphaericus* وثيورنجينسيز *B. thuringiensis* وهكذا.

وتصل غاية التخصص العالي للفيروسات البكتيرية أن بعضًا منها تكون متخصصة في إصابة سلالة Strain معينة لنوع معين من البكتيريا دون الأخرى أو لبعض السلالات دون الأخرى.

وثمة حقيقة مهمة فيما يتعلق بتخصص لاقمات البكتيريا العالي حيث نلاحظ أن بعضها لا تصيب إلا نوعا أو سلالة واحدة، وبذا يكون لها مدى عوائل ضيق Restricted جدًا وتسمى وحيدة التكافؤ Monovalent. وعلاوة على ذلك، فإن أنواعًا أخرى من الفاجات كل واحد منها يمكن أن يصيب أكثر من نوع أو سلالة بكتيرية، وبذا يكون لها مدى من العوائل أوسع نسبيًا وتسمى عديدة التكافؤ Polyvalent، سواء في ذلك أن تصيب عدة سلالات من نفس النوع، أو عدة أنواع من نفس الجنس، أو عدة أجناس لمجموعة بكتيرية معينة، ولكن ليس بين مجموعات بكتيرية مختلفة أو بعيدة القرابة.

(٢٦,٣) تسمية فاجات البكتيريا :Nomenclature of bacteriophages

يصعب تسمية الفيروسات، عمومًا، ويستحيل، إذ لم ينجح اتباع طريقة التسمية العلمية الثنائية Bionomial system of nomenclature، والمتبع في تسمية النباتات والحيوانات وسائر الأحياء الدقيقة الأخرى. ويرجع سبب هذه المشكلات أولاً، إلى أن أشكال الفاجات محدودة، لكن تنوعاتها التركيبية والسلوكية والتخصصية متنوعة جدًا. ثانيًا: إن البكتيريا الواحدة قد تصيبها عدة أنواع أو عشرات من الفاجات. ثالثًا: إنها لاتتشابه مع فيروسات الحيوان والنبات من حيث إظهارها لأعراض مرضية، لهذا لا يحدث بالنسبة للبكتيريا التي تصاب بالفاج. ومن المعلوم أن تسمية الفيروسات النباتية والحيواينة غالبًا ما تعتمد على واحد أو أكثر من الطرق التالية :

١ - على حسب المرض الذي يسببه أو عرض أو أعراض من المرض الذي يسببه الفيروس.
٢ - على حسب المكان أو البلد الذي عزل منها لأول مرة.
٣ - على حسب العائل الذي يصيبه.
٤ - على حسب العالم أو العلماء الذين اكتشفوه.

وعند تسمية فيروسات البكتيريا، تعطى حروفا إنجليزية M, S, P, T أو أرقاما عربية Arabic numbers (لاحظ أن الأرقام التي نستخدمها - الآن - ليست عربية الأصل وإنما هندية عربت) مثل 1 ,2 ,3 ,4 أو تعطى حروفًا إنجليزية وأرقامًا عربية، أو تعطى حروفا رومانية مثل، لامدا λ، فاي ϕ ، بيتا β، كيو Q، ميو μ، أو من كل ذلك معًا مثل فاج فاي إكس - ١٧٤ (ϕX - 174).

(٢٦,٤) الصفات العامة فاجات البكتيريا General characteristics of bacteriophages:

تنطبق الصفات العامة للفيروسات على فيروسات البكتيريا، فهي واسعة الانتشار في الطبيعة وتوجد في كل البيئات التي تتواجد فيها البكتيريا. كما أن معظم أنواع البكتيريا تصيبها الفاجات، ربما عشرات أو مئات لنوع البكتيريا الواحدة. ومعمليًا، يمكن عزل هذه الفاجات بسهولة بتقنية بسيطة، وكل الفاجات تتكون، أساسًا، من الحامض النووي الفيروسي (المادة الوراثية) ومن البروتين. ويوجد نوعان رئيسيان من الفاجات هي اللاقمات المحللة Lytic، أو التي تدمر الخلية المصابة. والنوع الثاني: هو الفاجات المعتدلة Temperate أو غير الشرسة Avirulent، والتي تبقى الخلية المصابة بها سليمة.

(٢٦,٥) الشكل الظاهري والتركيب Morphology and structue:

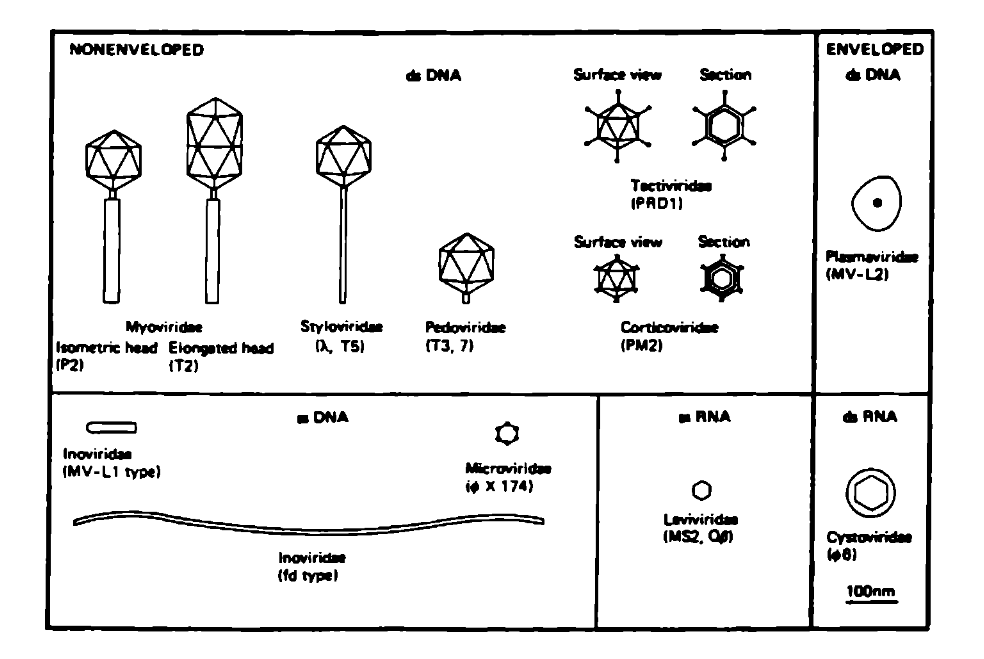
لقد مكن المجهر الإلكتروني من رؤية الفيروسات وتوضيح أشكالها وخصائص الفيروسات البكتيرية، فكل الفاجات تمتلك محورًا من نوع واحد من

الحامض النووي يكون محوطًا بغطاء Coat من البروتين أو المحفظة (الكابسيد) Capsid. ويتكون الغطاء من وحدات موروفولوجية (كما ترى تحت المجهر الإلكتروني) تسمى كابسوميرات Capsomeres. وتتكون كل من الكابسوميرات من عدد من جزيئات تحت الوحدات البروتينية التي تسمى الأجزاء البادئة Protomers، ويبين الشكل رقم (٥٥)، التركيب الدقيق والتشريحي لشكل مورفولوجي شائع في لاقمات البكتيريا وهو الفاج المذيل Tailed phage أي الذي يمتلك رأساً وذيلا.



الشكل رقم (٥٥). الفاج ت٤.

وتقع معظم أشكال الفيروسات (الشكل رقم ٥٦) في أحد المجموعات المورفولوجية السبعة التالية:



الشكل رقم (٥٦). عائلات الفيروسات البكتيرية وأمثلة لها.

١ - مجموعة أ (A): وهي النوع الأكثر تعقيدًا ويكون الفـاج رأسًا سداسيًا Hexagonal وذيلا صلبا Rigid مع غمد متقبض Contractile sheath وألياف Fibres الذيل، مثل فاجات البكتيريا القولونية ت -٢ و ت -٤ و ت -٦ (أي الزوجية) و 4 T و T2.

٢ - مجموعة ب (B): وهي تشبه مجموعة أ، ولهـذا النوع رأس سداسي. ومع ذلك، فإنه ينقصه الغمد المتقبض، حيث إن ذيله مرن Flexible، وربما يمتلك أو لا يمتلك أليافا بالذيل. ومن أمثلة هـذا النـوع فاجات كـولاي Coliphages ت١ أو ت -٥ (T1 أو T5).

٣ - مجموعة ج (C) : ويتميز فيها الفاج برأس سداسي وذيل أقصر من الرأس. وليس للذيل أي غمد متقبض، وربما يمتلك أو لا يمتلك أليافا بالذيل.

٤ - مجموعة د (D): ويتكون الفاج في هذه المجموعة من رأس، فقط، بدون ذيل، ويتكون الرأس من كابسوميرات كبيرة مثل لاقمات كولاي: في إكس - ١٧٤ (φX-174) وإس - ١٣ (S13).

٥ - مجموعة هـ (E): ولفاجات هذه المجموعة رأسًا، فقط، بلا ذيل وتكون الكابسوميرات صغيرة مثل: لاقمات كولاي: إف -٢ (F2) وإم إس -٢ (MS2)

٦ - مجموعة و (F): وأشكالها خيطية Filamentous مثل فاجات كولاي: اف دي (fd) واف -١ (f1).

٧ - مجموعة ز (G): هي فيروسات تحتوي على الدهون ومتغيرة الشكل Pleomorphic وتحتوي على ح ن د DNA مزدوج الخيط مثل فاج المايكوبلازما MV-L2 وفاج فاي -٦ (φ6) الذي يصيب سيدوموناس فاسيوليكولا *Pseudomonas phaseolicola*.

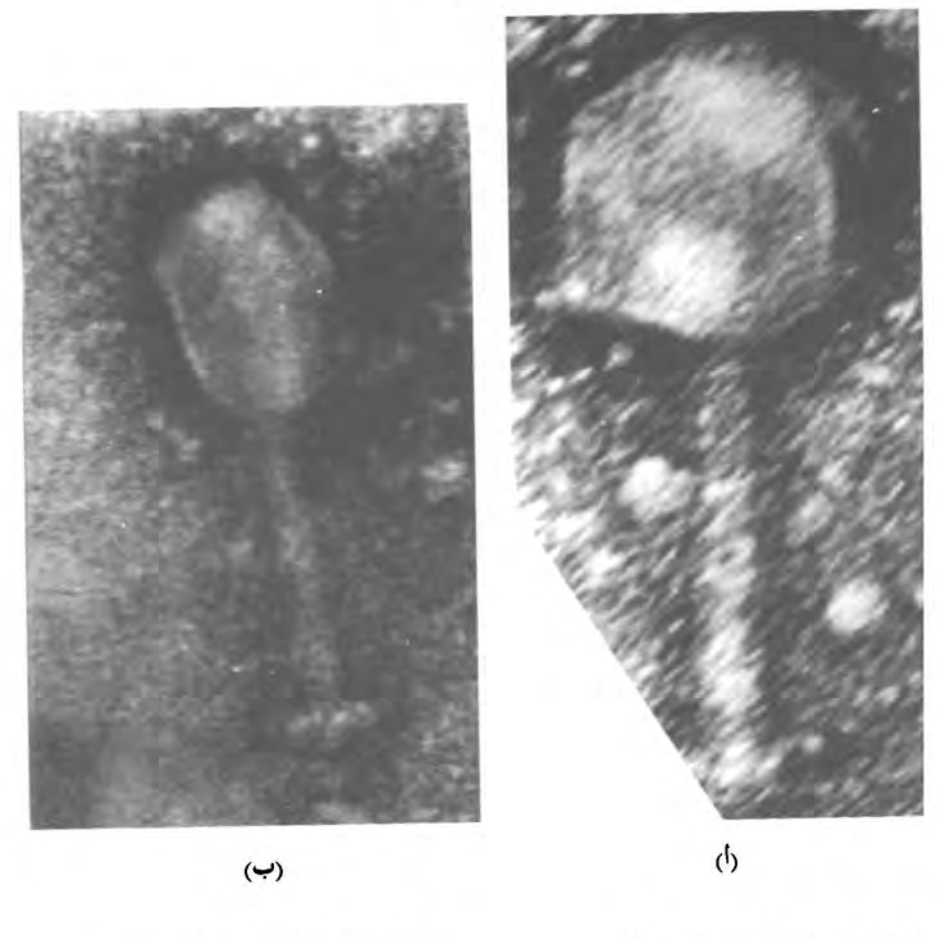
(٢٦,٦) تقسيم الفيروسات البكتيرية Classification of bacterial viruses:

تنقسم الفيروسات البكتيرية الآن إلى عائلات يضاف في نهايتها المقطع فيريدي viridae على ضوء ما اقترحته اللجنة الفرعية الدولية لتسمية الفيروسات البكتيرية وذلك كما هو مبين في الشكل رقم (٥٦).

(٢٦,٦,١) فيروسات البكتيريا غير المغلفة Non-enveloped:

عائلة الفيروسات متقبضة الذيل Myoviridae (Myo = contractile): أفرادها ذات تماثل ثنائي Binal symmetry (أي لها راس وذيل) وتركيب معقد، يتكون الذيل (٨٠ - ٤٥٥ نانومترًا) من أنبوبة مركزية وغمد متقبض ينفصل عن الرأس بوساطة رقبة. الذيل متقبض والرأس كبير نسبيًا، وتحتوي على ح ن د d.s DNA مزدوج الخيط.

الأمثلة: فاجات كولاي الزوجية (T6, T4, T2) و 50 - SP (باسيللاس) و WTI (رايزوبيام) و ١٣ (مايكوبكتيريام) وφW ومصر -١ ومصر -٢ ومصر -٣ (سيدوموناس) ويوجد في الفاج T2 رأس متطاول على حين أن P2 يكون راسه متساوي الأضلاع Isometric (الشكل رقم٥٧).



(أ) (ب)

الشكل رقم (٥٧أ). فاج مصر -١

الشكل رقم (٥٧ب). فاج مصر -٢

(٢٦,٦,٢) عائلة الفيروسات الخرطومية Styloviridae (Stylos = columm = tail):

الفاجات ذات ذيول طويلة غير متقبضة. تحتوي على ح ن د مزدوج الخيط d.s-DNA.

أفرادها: لامدا λ أو Ti و Ts من فاجات كولاي واللاقم١١ (باسيلللاس) و SDI (سيدوموناس) و ٣١٧ (رايزوبيام) و N5 (مايكروكوكاس) و ٢٤ (ستربتوكوكاس) وϕC (أكتينوفاج) وكلها ذات رأس متساوي الأضلاع.

أمـا الفاجـات PT11 (أجرويكتيريـام) و ٧ - ٧ - ٧ (رايزوبيـام) و XP-12 (سـيدوموناس - زانثومونـاس) و R1 ,R2 (أكتينـوفاج) فإنـها ذات رأس متطـاول Elongated.

(٢٦,٦,٣) **عائلة الفيروسات القدمية Podoviridae :(podo = foot)**: وهي فاجات قصيرة الذيل والرأس متساوي الأضلاع، وتحتوي على ح ن د مزدوج الخيط d.s-DNA من أمثلتها: T7,T3 (إيشيريشيا كولاي) و 2042 ϕ و 2 (رايزوبيام) ١٦ (ستربتومايسيز) و ١١٤ (ثرمومونوسبورا).

أما فاجات 29 ϕ (باسيللاس) و١٨٢ (ستربتوكوكاس)، فإنـها ذات رؤوس متطاولة.

(٢٦,٦,٤) **عائلـة الفيروسـات المغطـاة Tectiviridae (Tectus = covered)**. وهي إيكوزاهيدرالية، قطرها ٦٥ نانومترًا وتوجد أشـواك Spikes على الأركـان Vertices ويتكون الغطاء من طبقتين Double capsid ومن أمثلتها PRDI الذي يصيب البكتيريا سالبة الجرام و Bam 35 الذي يصيب باسيللاس، وتحتوي على ح ن د مزدوج الخيط d.s-DNA.

(٢٦,٦,٥) **عائلة الفيروسات القشرية Corticoviridae (Cortico = cortex = bark)** : وهي إيكوزاهيدرالية، قطرها ٦٠ نانومترًا، وتوجد أشواك تشبه الفرشاة على الأركان. الغطاء متعدد الطبقات Multilayered capsid خاصة بالنسبة للاقمات سيدوموناس البحرية Marine pseudomonad وهي من ح ن د مزدوج الخيط d.s-DNA.

(٢٦,٦,٦) **عائلة الفيروسات العضلية Inoviridae (Ino = muscle)**: وتحتوي على ح ن د مفرد الخيط s.s-DNA وتنقسم إلى:

أ - فيروسات عصوية الشكل Rod - shaped : يكون فيها ح ن د دائريا Circular DNA ومن أمثلتها فيروس المايكوبلازما MV-L1 type. وتكون الفيريونات إما طويلة وإما قصيرة، وتكون الأغطية حلزونية Helical وتخرج Extruded الفاجات من خلال الغشاء السيتوبلازمي للخلية، ولا تحدث تحللاً، والعائل يعيش.

ب- فيروسات خيطية Filamentous : وهـي عصـي طويلة جدًا ومرنة (٧٦٠ - ١٩٥٠ نانومترًا طولا و ٦ نانومترات، قطرًا) ومن أمثلتها : M13, fd, f1 لإيشيريا كولاي و V6 الذي يصيب فيبريو *Vibrio*.

(٢٦,٦,٧) عائلة الفاجات الصغيرة Microviridae (micro = small). وهي فيروسات ذات ح ن د مفرد الخيط دائري s.s-DNA circular، إيكوزاهيدرالية قطرها ٢٧ نانومـترًا ذات ١٢ كابسومير، وشوكة شبه عقدية Knob-shaped على الأركان. ومن أمثلتها ϕX-174 للبكتيريا القولونية *E. coli*.

(٢٦,٦,٨) عائلة الفيروسات الخفيفة Leviviridae (Levi = light). وفيريوناتهـا ذات ح ن ر مفرد الخيط s.s-RNA، إيكوزاهيدرالية ولها ٣٢ كابسوميرًا قطرها ٢٣ نانوميتر. من أمثلتها MS2, f2, R17 و QB لإيشيريشيا كولاي و PPRI الذي يصيب سيدوموناس.

(٢٦,٧) فيروسات البكتيريا المغلفة Enveloped

(٢٦,٧,١) العائلة المتشكلة Plasmaviridae (plasma = shaped)

هي فيروسات تحتوي على ح ن د مزدوج d.s-DNA. مستديرة، متغيرة الشكل نوعًا ما، ذات أغلفة مرنة قطرها ٥٠-١٢٠ نانومترًا. تتحرر الفيريونات الناضجة بالتبرعم Budding من الغشاء البلازمي للخلية، الخلية لا تتحلل وتعيش كمولد للتحلل Lysogen تصيب المايكوبلازما (اللاقم نوع -٢) مثل MV-L2 الذي يصيب أكوليبلازما Acholeplasma.

(٢٦,٧,٢) عائلة الفيروسات المجزأة: Cystoviridae (cysto = segmented). وفيروساتها تحتوي على ح ن ر مزدوج الخيط d.s-RNA، وهي متساوية الأضلاع ونحو ٧٥ نانومترًا وذات غلاف مزدوج مرن Flexible وغطاء مكعبي من ٦٠ نانومترًا، والمورث Genome من ح ن ر مزدوج الخيط من ثلاث قطع. ومن أمثلتها فاي ٦ (ϕ 6) الذي يصيب سيدوموناس فاسيوليكولا، وهو متساوي الأضلاع، نحو ٧٥ نانوميترًا، غلافه مرن وبه غطاء مكعبي قطره ٦٠ نانومترًا والمورث من ٣ قطع من ح ن ر مزدوج الخيط.

(٢٦,٨) فيروسات البكتيريا القولونية *Escherichia coli* viruses:

حظيت البكتيريا القولونية *E. coli* بالدراسة المكثفة المستفيضة المستمرة كما حظيت كذلك الفاجات التي تصيبها وهي عديدة، أيضًا.

ومن فاجات كولاي Coliphages مجموعة T مثل T7, T6, T5, T4, T3, T2, T1, وفاي -٨٠ (ϕ80)، P2,P1 وكلها ذات مورث من ح ن د مزدوج (d.s-DNA). أما اللاقم فاي إكس - ١٧٤ (ϕX-174) و f1 و fd فمورثها من ح ن د مفرد الخيط (ss-DNA). واللاقمات f2 و MS2 و QB (كيوبيتا)، فكلها من ح ن ر مفرد الخيط (S.s-DNA).

(٢٦,٩) التنويع بالفاجات: (Phage - typing):

على ضوء ما سبق ذكره من حيث التخصص العالي للفاجات بالنسبة للعائل الذي تصيبه، ونظرًا لوجود بطارية من العديد من اللاقمات لبكتيريا واحدة ذات تنوع وتعدد بالنسبة لكثرة سلالاتها، فإن هذه الأنواع المختلفة من الفاجات تختبر لتحديد نوع السلالة البكتيرية تبعًا لقابلية البكتيريا وعدم قابليتها Susceptibility/insusceptibility وعدم قابليتها للإصابة بهذا النوع من الفاج أو ذاك. لهذا، فكل نوع بكتيريا أو سلالة تتبع نمطًا Pattern للاستجابة للفاجات المختبرة. وهذا ما يسمى التنويع بالفاجات Phage-typing. على أساس هذه المجموعة من الفاجات، فإن أنواع البكتيريا أو سلالاتها يسهل التفريق والتمييز بينها، بل والتعرف عليها. ولذا يعد التنويع بالفاجات وسيلة مفيدة للتعرف، أيضًا، على أجناس البكتيريا ليس، فقط، على مستوى الأنواع ولكن على مستوى السلالات Strains والطفرات Mutants، أيضًا. ويعتمد التنويع بالفاجات على وجود عدد معين من فاجات البكتيريا التي تعطي أنماطًا متباينة مع السلالات المختلفة من البكتيريا.

مثال: التنويع بالفاج لسلالات سيدموناس ابريوجينوزا *Pseudomonas aeruginosa*، أعطيت السلالة التي تصاب بالفاج علامة (+)، أما السلالة التي لا تصاب فأعطيت علامة (-).

يتضح من الجدول رقم (١٣). أن نظام التنويع بالفاج يختلف من سلالة إلى سلالة حتى ولو تشابهت في تفاعلاتها مع معظم أنواع اللاقمات.

الجدول رقم (١٣). يبين أنماط التنويع بالفاج Phage typing للسلالات البكتيرية المختلفة باستخدام مجموعة مقننة من الفاجات standard phages

سلالة البكتيريا	١	٢	٣	٤	٥	٦	٧	٨	٩	١٠	١١	١٢	١٣	١٤
نوع اللاقم														
١	+	+	+	−	+	+	+	−	+	+	+	+	−	−
٢	−	−	+	+	+	+	−	+	+	+	+	+	−	+
٣	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+
٤	−	−	−	+	+	+	−	−	+	+	−	+	−	−
٥	−	−	−	+	+	+	−	−	+	+	−	+	−	+
٦	−	−	−	−	+	+	−	−	+	+	−	+	−	+
٧	−	−	−	−	+	+	+	+	−	−	+	+	−	+
٨	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	+	−	−	−
٩	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	+	+	+
١٠	+	+	+	+	+	−	+	+	+	+	+	+	−	+

لكن، عند تطبيق ذلك عمليًا على سلالات البكتيريا المعزولة، يمكن تحديد أي نوع يتطابق مع هذه السلالات البكتيرية. وبإجراء جميع التحاليل، نجد أنها تتطابق فيما يتعلق بخواص هذه السلالات.

ويستفاد من هذه الدراسات في عمل تعقب وبائي Epidemiological tracing للسلالات الجديدة، أو أكثر السلالات انتشارًا أو إحداثًا للمرض، وكذلك معرفة السلالات المتوطنة وعلاقة ذلك بالأنواع المصلية Serotypes والتنويع بالبيوسين Pyocin-typing والحساسية للمضادات الحيوية Antibiotic sensitivity والإمراضية Pathogenesis.

(٢٦,١٠) أنواع الإصابة بالفاج (Types of phage infections)

(٢٦,١٠,١) الإصابة التحللية Lytic - infection:

ويطلق عليها، أيضًا، إصابة خضرية Vegetative، أو تكاثرية Replicative، أو منتجة لخلفة الفاج Reproductive. وتسبب هذه الإصابة تحللا وتدميرًا تامًا للخلايا المصابة، وتسميتها خضرية تعني أن الفاج الذي يحدث إصابة يتكاثر داخل الخلية مكونًا عدة نسخ Replica من خلفة اللاقم Progeny، كما أن الفيروسات التي تؤدي إلى تدمير الخلايا المصابة وتحللها يطلق عليها اسم فيروسات شرسة Virulent phages. (انظر الشكل رقم ٥٨).



الشكل رقم (٥٨). صورة بالمجهر الإلكتروني لخلية بكتيرية منفجرة تظهر تحرر الفاجات المتكاثرة.

(٢٦,١٠,١,١) عملية الإصابة: (The process of infection)

أولاً: الاتصال والادمصاص Attachment and adsorption

يحدث سقوط Collision الفيريونات أو انتقالها ووصولها إلى مواضع Foci معينة من سطح الخلية البكتيرية الحساسة للإصابة باللاقم المعين. وتتصل بعض تراكيب أو أجزاء من سطح اللاقم إلى هذه المواضع المعينة من سطح الخلية البكتيرية، وتسمى الأخيرة مواضع الاستقبال Receptor sites. ويوجد للاقم الواحد العديد من مواضع الاستقبال على كل خلية بكتيرية وتوجد عدة أنواع من مواضع الاستقبال على حسب نوع البكتيريا من ناحية، أو نوع اللاقم من ناحية أخرى لدرجة أن نوعًا واحدًا من البكتيريا يوجد عليه أكثر من نوع من مواضع الاستقبال لأنواع مختلفة من اللاقم، وقد توجد مواضع الاستقبال على أماكن مختلفة من الخلية البكتيرية مثل:

١ - أن توجد على الطبقة الخارجية أو الداخلية من الجدار الخلوي.

٢ - إن توجد على أوبار Pili الأنواع المذكرة +F، مثلما هو في البكتيريا القولونية *E. coli*، كما أن المستقبلات التي توجد على الأوبار قد توجد على قمة Tip الوبرة مثلما هو للاقم fd، أو جانبيًا Laterally على كل طول الوبرة مثلما هو للاقم f2.

٣ - أن توجد على الأسواط Flagella، مثل اللاقم تشاي (χ) الذي ينزلق slides على طول السوط ليصل إلى سطح الخلية البكتيرية.

وينتج عن اتصال الفاج بموضع الاستقبال أن يحدث إلتصاقه وتماسكه Adhesion and cohesion بالخلية في عملية كيمو طبيعية ينتج عنها مسك الدقيقة الفيروسية بالخلية وإدمصاصها عند موضع الإستقبال. وقد لوحظ أنه، في بعض الحالات، يمكن للخلية الواحدة أن تدمص على سطحها الخارجي نحو ٣٠٠ دقيقة فيروسية أو أكثر وأقرب مثال لذلك اللاقمات T إذ قد تغطي معظم أو سطح الخلية كله. ولكي تتم عملية الإدمصاص، لا بد من وجود اختلاف في الشحنات الكهربائية

أو تكون روابط هيدروستاتيكية Hydrostatic bonds بين اللاقم وموضع الاستقبال. ويساعد على تقوية روابط الادمصاص وجود كاتيونات موجبة الشحنة ووجود عوامل مساعدة Cofactors مثل الكالسيوم Ca^{++} أو المغنسيوم Mg^{++} وربما أحماض أمينية في الوسط مثل تربتوفان Tryptophan. وتتوقف عملية الإدمصاص على القوة الأيونية Ionic strength والأس الهيدروجيني للوسط.

وفي بعض الحالات، مثل اللاقمات T6, T4, T2، فإن اتصال دقيقة اللاقم أو الأغطية الفارغة Ghosts (Empty capsids) يسبب تغييرًا شديدًا في غشاء الخلية، فعند اتصال قلة من اللاقمات، يصبح الغشاء الخلوي منفذا Permeable للأجزاء الصغيرة، وعند اتصال أعداد كبيرة، فإن الخلية تتحلل وتسمى هذه الحالة تحللاً من لا شيء Lysis from without. ومن الجدير بالذكر أنه حتى لو كانت دقيقة اللاقم واحدة أو شبح لها Ghost (أي غطاء بدون حامض نووي)، فإن هذا يؤثر على الغشاء، ليس، فقط، على النفاذية ولكن، أيضًا، يسبب تثبيطًا لتخليق ح ن د DNA وبروتين الخلية.

ثانيًا – الاختراق Penetration:

في عام ١٩٥٢م أثبت كلا من مارثا تشيس Martha Chase وألفريد هيرشي Alfred Hershy أن مورث فاج ت -٢ هو، فقط، الذي يخترق خلية البكتيريا القولونية. واللاقم T2 له ذيل متقبض Contractile tail، وفي حالته المفرودة Extended وهو حر، فإنه يتكون من ٢٤ حلقة من ٦ تحت وحدات من حجم واحد تتبادل مع حلقة من ٦ تحت وحدات أكبر حجمًا. وعقب عملية الإدمصاص، فإن الذيل ينقبض Contracts مما ينتج عنه اندماج Merging تحت الوحدات الصغيرة مع تحت الوحدات الكبيرة لكل حلقتين مكونتين حلقة واحدة، وبذا، تتكون ١٢ حلقة بكل ١٢ تحت وحدة. وتندفع الأنبوبة المركزية، وهي غير منقبضة وتشبه إبرة الحقنة Syringe needle، خلال الطبقات الخارجية لجدار الخلية البكتيرية بحركة التفافية Twisting وتقبض الرأس مما يؤدي إلى قذف Ejaculation وتفريغ ح ن د الفيروسي Viral DNA داخل الخلية. ويساعد على أداء

هذه العملية ترقيق Thining الجدار بفعل هضم الإنزيمات المحللة الهادمة (ليسوزيوم Lysozyme) والتي تكون موجودة، أصلاً داخل ذيل اللاقم. أما الطاقة اللازمة لعملية التقبض فتأتي من ١٤٤ جزيئا من أدينوسين ثلاثي الفوسفات ATP مبنية، أيضًا، داخل غمد Sheath الذيل. وبعد عملية حقن ح ن د الفيروس بالخلية تبقى الأشباح الفارغة للعلب Capsid ghosts خارج الخلية.

أما الفاجات الخيطية Filamentous ذات ح ن د DNA، فإنها تخترق الخلية المصابة بآلية مختلفة، إذْ أنها تتصل وتدمص إلى جانب أوبار الجنس Sex pili. ويتم الاختراق من خلال تراجع أو سحب Retraction كل معقد اللاقم بالوبرة إلى داخل الخلية. أما الفاجات التي تدمص إلى الأسواط Flagella، فإنها تسلك نفس الطريقة، على حين أن المدمصة إلى قمة Tip الأوبار، تخترق الخلية عبر قنيات Tubules الأوبار في صورة مادتها الوراثية ح ن ر RNA ومعها، فقط، نوع واحد من البروتين يسمى بروتين A.

ثالثًا – التقشير Uncoating

نعني بالتقشير إزالة القشرة Capsid=shell الموجودة حول الحامض النووي الفيروسي. ففي لاقمات ح ن د DNA ذات الذيل المتقبض، يقذف بالحامض النووي الفيروسي عاريًا داخل الخلية البكتيرية وبذا لا تحتاج هذه الفيروسات إلى عملية تقشير.

أما عملية التقشير، فتتم عندما يدخل الفاج بكامل تركيبه، أو عندما تحاط المادة الوراثية بالبروتين، عندئذ، تقوم إنزيمات الخلية بتحليل البروتين الفيروسي ليصبح حرًا.

رابعًا – التكشف داخل الخلوي لفاجات ح ن د Intracellular development of DNA phages

إن بعض الفاجات تحلل، عادة، خلايا عوائلها بعد الإصابة بفترة وجيزة جدًا، عادة، في غضون بضع دقائق، وربما قبل أن تستطيع خلايا العائل الانقسام ثانية.

فبمجرد أن يحقن هذا الفاج حامضه النووي داخل العائل، فإن الأحداث التي تعقب يمكن تأكيدها عن طريق غير مباشر.

والنتائج التي يمكن الحصول عليها تؤخذ من تجارب يشعع فيها اللاقم وكذلك تشعع النواتج الأيضية لخلية العائل. علاوة على ذلك، فإنه يمكن إجراء إصابة تحللية Lytic infection غير تامة النضج Premature صناعيًا. ويمكن إيجاز التطورات التي تحدث في الفاج داخل الخلية فيما يلي:

(أ) فترة الخسوف Eclipse period:

وهي تلك التي تبدأ منذ حدوث الإصابة والتي لا يمكن فيها الكشف عن وجود لاقم نشط أو تصويره وإثبات وجوده داخل الخلية المصابة. وقد أمكن إثبات ذلك عن طريق إحداث تحلل مبكر غير تام (يكون ذلك، عادة، بوساطة ذبذبات فوق صوتية Ultrasonic oscillations). لكن، تبين، بالتحليل الكيميائي والتعقب Tracing الإشعاعي أن، خلية العائل خلال هذه الفترة، تتوقف عن تخليق ح ن د DNA البكتيري وتتحول Shifts لتخليق ح ن د DNA الفيروسي بوساطة المادة الوراثية للفيروس. كذلك، فقد ثبت أن اللاقم (T6, T4, T2) يمكن أن يتضمن إنتاج نوع غريب من البريميدينات Pyrimidines يسمى هيدروكسي مثيل سيتوسين Hydroxy methyl cytosine، كما أن اللاقم الغازي يوجه تخليق إنزيمات جديدة في خلفة العائل.

إن عددًا من البروتينات الجديدة التي تخلق مبكرًا Early proteins تشتمل على إنزيمات نوعية ضرورية لتخليق ح ن د DNA الفيروسي منها: إنزيم مبلمر ح ن د DNA polymerase جديد يقوم بعملية بلمرة وإضافة نيوكليوتيدات Nucleotides أثناء تخليق ح ن د الفيروسي. وكذلك تشتمل على إنزيمات الفسفرة Kinases والخاصة بإحداث الفسفرة وتكوين النيوكليوتيدات ثلاثية الفوسفات Nucleotide triphosphates، وكذلك إنزيم مخلق الثايميدين Thymidylate synthetase. وفي حالة فاجات T الثنائية (T6, T4, T2) التي تستخدم ميثيل سيتوسين بدلا من السيتوسين في

ح ن د DNA (الخاص بها)، فإنها تخلق، أيضًا، إنزيمات تحتاجها في تخليق هيدروكسي ميثيل سيتوسين، وكذلك إنزيمات تقوم بتحطيم دي أوكسي سيتيدين ثلاثي الفوسفات Deoxy ctidine Triphosphate الخاص بالخلية.

أما في آخر فترة الخسوف، فتظهر بروتينات متأخرة Late proteins تشتمل على تحت الوحدات البروتينية الخاصة وتكوين رأس الفاج وذيله وكذلك تكوين إنزيمات محللة هادمة ليسوزيمز Lysozymes تقوم، فيما بعد، بتكسير طبقة الببتيدوجليكان المكونة لجدار الخلية.

ومما تجدر الإشارة إليه أن إنزيمات الفاج وبروتيناته التي تتخلق داخل الخلية المصابة إنما تتكون عن طريق المعلومات الوراثية Genetic information الخاصة باللاقم وباستخدام آليات الخلية وإمكانيتها.

وكما سبق القول، فإن الفترة ما بين دخول الفيروس للخلية المصابة وبين إنتاجه خلفة جديدة من الفيريونات بعد تكاثره، تسمى فترة الكمون Latent period، أو فترة الخسوف The eclipse، إذ تكون عيارية Titer الفاج خلال هذه الفترة صفرًا nil أي لا يمكن الكشف عن وجود أي فاج حتى الفاج الذي دخل الخلية. ويمكن الاستدلال على نهاية فترة الخسوف عندما يظهر في المتوسط وحده واحدة فيروسية معدية لكل خلية نتيجة لتكاثر الفيروس.

ب – فترة التراكم داخل الخلوي The intracellular accumulation period

يبدأ مورث اللاقم أثناء فترة الخسوف تشغيل الآليات Machines لتكاثره Multiplication فيعمل المورث (المجين Genome) الفيروسي قالبًا Template لإنتاج ح ن ر الرسول messenger RNA (m-RNA) وهذا ما يسمى بالنسخ المبكر Early transcription.

ويعد عمل نسخة (منسوخة) Transcript، تترجم Translation إلى بروتين أو بروتينات يكون أغلبها بروتينات غير تركيبية عبارة عن إنزيمات ضرورية لعملية تكاثر Replication المورث الفيروسي.

بذلك يستطيع أن يدخل المورث الفيروسي في عملية التكاثر ويستطيع الفيروس فيه أن يكوّن نسخا Copies تكرارية Replica مطابقة للمورث الأصلي بوساطة الإنزيم أو الإنزيمات المخلقة حديثا وتتكرر هذه العملية مرات عديدة إلى أن يكون عشرات أو مئات من المورث (الجين).

ويلزم لتكاثر المورث الفيروسي (والذي يعمل قالب من ح ن د مزدوج الخيط) وجود إنزيم الإكثار Replicase (عبارة عن إنزيم مبلمر ح ن د DNA polymerase)، ووجود النيوكليوتيدات المناسبة ومصادر الطاقة والوسط الخاص. ويتكون كل حامض نووي بنوي جديد New daughter nucleic acid من نصفين: نصف من الجزيء الأبوي Parental ونصف مخلق جديد ومن ثم، يطلق على تكاثر هذا الحامض النووي أنه نصف محافظ Semi conservative.

تلي عملية تكاثر المورث أن تقوم كل نسخة من هذه التكرارات للمورث بعمل نسخ يطلق عليه النسخ المتأخر Late transcription يعطي ح ن ر رسول m-RNA والذي، بالتالي، تجرى له عملية ترجمة تعرف باسم الترجمة المتأخرة Late translation. وتؤدي هذه العمليات إلى تخليق بروتينات الغطاء وغيرها من التراكيب الأخرى الضرورية للفيروس ولكل نسخة من المورثات التي تم تخليقها (أي انها تؤدي إلى تكوين بروتينات تركيبية Structural proteins) في معظمها. وتنتهي هذه العمليات عند البدء في عملية التجميع Assembly، إذ تتجمع كل أجزاء الفيروس ومكوناته معًا لتكون وحدات فيريونية من فيروسات كاملة معدية.

وتتراكم هذه الفيريونات، خلفة الفاج، داخل الخلية Intracellularly لكنها تتحرر Released في الوسط Medium. وبنهاية هذه الفترة، يكون قد مضى الوقت اللازم لإنتاج وحدة فيروسية معدية لكل خلية والتي تظهر خارجيًا Exracellularly ونهاية هذه الفترة تحدد، أيضًا، نهاية فترة الكمون.

جـ - فترة الارتفاع (التحرر The rise period (release:

بنهاية فترة الكمون، يكون قد بدأ إنتاج الفيريونات ثم تزداد، بعد ذلك، عيارية Titre الفاج الخارج خلوي حتى نهاية دورة التكاثر Multiplication cycle. ويتراوح متوسط Average عدد الفيروسات المعدية لكل خلية منتجة بين ١٠ - ٢٠٠ فيريون تمثل المحصول الفيروسي Viral yield. ويتحقق تحرر Release خلفة الفاج إلى الوسط بتحلل Lysis الخلية فيما يسمى بالانفجار Burst. ويحدث التحلل بفعل الإنزيمات المحللة الهادمة (ليسوزيمات Lysozymes) أو ما تسمى محللات (ليسينات Lysines). كما أن الخلايا المنتجة للاقم تنفجر، أيضًا، نتيجة للضغط الأسموزي Osmotic pressure. بعد أن يكون الجدار البكتيري قد رق وضعف من الداخل بفعل الإنزيمات المحللة الهادمة المتكونة مع الفاج.

ويستثنى من ذلك فاجات ح ن د الخيطية Filamentous DNA phages are excptions، إذ تنضج الدقائق وتتسرب Extruded خارج جدار الخلية دون قتل العائل.

أما فاجات بكتيريا المايكوبلازما Mycoplasma فإنها تتحرر إما بالتبرعم Budding وإما بالتسرب (النز Shedding) من خلال غشاء الخلية (حيث إن المايكوبلازما عديمة الجدار).

(٢٦،١٠،١،٢) تكاثر الفاجات ذات ح ن ر: Replication of RNA phages:

عندما يدخل جزيء ح ن ر الفيروسي Viral RNA المفرد الخيط-Single-stranded داخل سيتوبلازم خلية العائل، فإن ريبوزومات الخلية تتعرف عليه مباشرة على أنه ح ن ر رسول Messenger RNA فترتبط Bind به وبسرعة تبدأ ترجمته إلى بروتين فيروسي. وأحد هذه البروتينات الفيروسية هو إنزيم بلمرة ح ن ر RNA polymerase وهو إنزيم معقد. وهذا الإنزيم يساعد Catalyses في تكاثر Replication ح ن ر الفيروسي من الريبونيوكليوتيدات ثلاثية الفوسفات كالأدينين والجوانين والسيتوسين واليوراسيل، مستخدما في ذلك المورث الفيروسي الأصلي ح ن ر قالبًا Template.

وأول خطوة في تكاثر ح ن ر هي تكوين وسيطات تكاثرية Replicative intermediates ثنائية الخيط، واحد من مورث الأب أحادي الخيط، ويسمى الخيط الموجب (+) Plus strand الذي يرتبط بروابط هيدروجينية مع الخيط المكمل السالب "Minus" Complementary strand المخلق بوساطة إنزيم بلمرة ح ن ر. بعد ذلك، يستخدم إنزيم بلمرة ح ن ر هذا الخيط المزدوج قالبًا Template في عملية التكاثر Replication المتكررة لإنتاج خيوط جديدة موجبة تخلق على الخيط السالب. وكل خيط موجب جديد ينزاح Displaced عن الخيط المزدوج الوسيط، لتبدأ العملية مرة أخرى وهكذا.

والخيوط الموجبة الجديدة المتحررة من وسيطات التكاثر R.I إما أن تستخدم من جديد ليتكون عليها وسيطات تكاثر وإما أنها تتجمع مباشرة في فيريونات ناضجة باتصالها مع تحت وحدات بروتين الغطاء.

(٢٦,١٠,٢) الإصابة غير التحللية: (Non-lytic infection):

إن الفاج الأولي أو بادئة الفاج Prophage يمثل فاجاً هادئًا Temperate يلتحم Integrates، عندما يخترق الخلية بوصفه فاجاً خضريًا Vegetative phage، مع مورث Genome الخلية البكتيرية الذي يضم كروموسومًا واحدًا دائريًا. عندئذ، يطلق على الخلية البكتيرية اسم مولدة التحلل Lysogenic. ويعرف المورث الفيروسي الملتحم بأنه فاج أولي. ويطلق على عملية التحام مورث الفاج مع مورث الخلية البكتيرية مولدة التحلل Lysogeny. ولا يستطيع مورث الفاج المتكامل (الملتحم) أن يتكاثر مستقلا بذاته، كما يحدث، عادة، لو أنه دخل الخلية ولم يتكامل. وبدلاً من ذلك، فإن مورث الفاج يتكاثر كلما تكاثر مورث الخلية البكتيرية معًا كوحدة واحدة: أي أن تكاثر المادة الوراثية للفاج الملتحم يكون تلازميًا Synchronously مع تكاثر خلية العائل جيلاً بعد جيل. ولا تحتوي البكتيريا مولدة التحلل على أي لاقم يمكن الكشف عنه لا شكليًا Morphologic ولا مصليًا Serologic ولا حتى كفيريون معدٍ Infectious virion. ومع

ذلك، فعند زراعة البكتيريا مولدة التحلل مع زيادة من سلالة من البكتيريا الحساسة Sensitive (يطلق عليها سلالة كاشفة Indicatior strain)، فإن كل خلية بكتيرية مولدة للتحلل تنمو إلى مستعمرة يتحرر فيها قليل من دقائق الفاج. وسرعان ما تهاجم هذه الدقائق الخلايا الحساسة المجاورة معطية بذلك روائق Plaques تبدو على غشاء النمو البكتيري. ويظهر في مركز كل رائقة مستعمرة من البكتيريا مولدة التحلل. وعادة ما تكون هذه الروائق عكرة Turbid.

الفصل السابع والعشرون

تأثير البكتيريوفاجات (لاقمات البكتيريوفاجات) على أحيائية الخلية أولية النواة

Effects of Bacteriophages on Prokaryotic Cell Biology

تختلف فيروسات البكتيريا، كما سبق عرضه، في أشكالها، وأنواع الأحماض النووية بها وفي محتوياتها من المعلومات الوراثية، أيضًا، وفي طرق تكاثرها. ونتيجة لهذه التباينات، فإن الفيروسات المختلفة تظهر تباينات في تأثيراتها الأحيائية على خلية العائل. إذ إن الإصابات ببعض أنواع الفاجات (الفاجات) تسبب تأثرات ضئيلة، منتجة خلية مصابة ذات صفات أحيائية من الصعب تمييزها عن الخلية غير المصابة. ومع ذلك، فإن العديد من الإصابات بالفاجات يكون لها عواقب أحيائية مأساوية بالنسبة للخلية المصابة. إذ تؤدي إلى تدمير الخلية المصابة أثناء عملية تكاثر الفيروس. وتبعا لقتل و / إضطراب Disruption الخلية، فإنه يطلق على مثل هذه الإصابات اسم قاتلة Cytocidal أو تحللية Lytic. ولكي يتحقق ذلك، فإن مختلف أنواع الفاجات تستخدم وظائف مختلفة كي تثبط العمليات الخلوية. وتكون دفاعات الخلية عاجزة Incapacitated جهازيًا ضد الفيروس، ومن ثم، تتحول مصادر الطاقة والمواد والآليات من أجل تكاثر الفيروس وإنتاج مكونات فيروسية تعمل على تثبيط العمليات الحيوية الخلوية أو توقفها كلية.

وقد طورت العديد من الفاجات الآليات التي تتحكم بها في وظائفها التكاثرية والتدميرية وهي بهذا تستطيع أن تبقى على تشارك ثابت نسبيًا وطويل الأمد مع خلية العائل في نمط حياة متبدل. وهذا يمكنه أن يكون تكافليًا Symbiotic ، أو أنه يعتمد على تكامل مورث الفاج مع مورث العائل ، فيما يعرف بتولد التحلل Lysogeny.

وتوجد أسباب عدة للاهتمام بالتأثيرات الأحيائية للفيروسات البكتيرية بغض النظر عن أهميتها من حيث المعرفة الأساسية للظواهر الأحيائية. من هنا ، لزم التنويه فيما يلي بأهمية دراسة الفيروسات البكتيرية ومساهماتها العلمية والتطبيقية :

١ - مكنت من دراسة الكيمياء الحيوية وفسيولوجيا البكتيريا.

٢ - لأن الفيروس يصيب خلية واحدة يمكن تتبع ما يحدث للفيروس وللخلية باستخدام المواد الإشعاعية والتحليلات الكيميائة وقد مكن ذلك من دراسة خطوات الإصابة الفيروسية وكيفية تكاثر الفيروس داخل الخلية الواحدة.

٣ - أدت إلى فهم الأحياء الجزيئية سواء للعائل أو للفيروس مما ساهم في تأسيس علوم كثيرة منها الأحياء الجزيئية Moelcular biology.

٤ - أمكن ، من دراسة تكاثر الفيروس ، تحديد أن المادة الوراثية هي الحامض النووي مما رسخ المفاهيم الوراثية وأسس علم الوراثة الجزيئية Molecular genetics.

٥ - أدت إلى فهم طبيعة الطفرات والتغيرات الوراثية.

٦ - أدت إلى تأسيس علم الهندسة الوراثية وتطويره Genetic engineering.

٧ - تعد بعض الفاجات مهمة طبيًا إما مباشرة لتورطها في الآليات الإمراضية ، وإما بشكل غير مباشرة خلال الارتباطات الانتخابية مع عوامل ممرضة.

٨ - تستخدم في الدراسات الوبائية Epidemiology للأمراض البكتيرية حيث يمكن تتبع ذلك عن طريق التنويع بالفاجات Phage-typing.

٩ - أوضحت ظاهرة التغير الوراثي بالتوصيل Transduction بوساطة الفاجات ظواهر أحيائية مهمة منها ظهور السلالات الجديدة، وفقد وكتساب صفات وراثية واكتساب مقاومة أو حساسية للمضادات الحيوية.

١٠- التقنيات التي اكتشفت مبكرًا في دراسة الفاجات ساهمت بقدر كبير في تطور دراسة فروع الفيروسات الأخرى(الإنسان - الحيوان - النبات - الحشرات... الخ).

١١ - خدمت بعض نظم فاجات البكتيريا باعتبارها نماذج مرشدة لدراسات عن فيروسات الإنسان والحيوان المسببة للسرطان بمقارنتها بما يحدث في حالة تولد التحلل Lysogeny التي تظهرها بعض الفيروسات البكتيرية.

(٢٧,١) التأثيرات الأحيائية للإصابات المنتجة

Biological effects on productive infections

(٢٧,١,١) تثبيط وظائف خلية العائل Inhibiton of host cell functions

إن بعض أبسط الفاجات التي تمتلك قدرًا أوليًا من المعلومات الوراثية اللازمة للتكاثر تستطيع أن تتكاثر دون أن تحدث اضطرابًا شديدًا في فسيولوجية الخلية العائلة. فمثلا، يؤسس، الفاج fd، وهو فيروس خيطي من ح ن د مفرد الخيط s.s DNA دائري ومن عائلة إينو Inoviridae إصابة منتجة دون أن يقتل أو يحلل الخلية. وتستمر الخلايا المصابة ذاتها في التكاثر وكذلك الفيروس، على الرغم من نضوب Drain الموارد الخلوية، فإنه يبطىء من النمو الخلوي، وتتحرر الفيريونات بطريقة الإفراز Secretion (النز Shedding) غير القاتلة. وهذا النمط من التكاثر غير المدمر، أساسًا، وتحرير الفيروسات يعد نادرًا بين الفيروسات البكتيرية ولكن العديد من فيروسات النبات وفيروسات معينة تصيب الحيوان تستخدم سياسات مناظرة في التعامل مع عوائلها. فعلى النقيض، تقتل معظم فاجات البكتيريا في النهاية Eventually خلية العائل أثناء تحرر دقائق الخلفة الفيروسية، إن لم يكن قبل ذلك. وهذا صحيح، أيضًا، للفيروسات الصغيرة ذات ح ن ر مفرد الخيط s.s RNA (عائلة

ليفي Leviviridae) وكذلك الفاجات متساوية الأضلاع ذات ح ن د مفرد الخيط s.s DNA الدائري (عائلة ميكرو Microviridae)، عمومًا، وكذلك لكل الفاجات ذات ح ن د مزدوج الخيط d.s-DNA. بناء عليه، فإن معظم الفاجات تثبط على الأقل، بعض وظائف خلية العائل النوعية أثناء الإصابة. وفي الجدول (رقم ١٤) بيان لبعض الأمثلة الواضحة على هذه التثبيطات.

ومن المعروف أن الفاجات ذات ح ن د مزدوج الخيط d.s-DNA تكون، عادة، معقدة، وتحمل جينات لوظائف غير أساسية تتضمن منتجات نوعية هدفها هو معادلة آليات دفاع العائل. والفاج ت٤ (T4) وهو واحد من أكبر الفاجات، يمتلك عديدًا من هذه الأسلحة، بعضها نشط هجومي Offensive وبعضها الآخر سلبي دفاعي Defensive. فعلى سبيل المثال، يدخل، منتج المورثة رقم٢ (gene2) إلى الخلية مع ح ن د الفيروسي أثناء حقنه في الخلية بوساطة الأنبوبة المركزية للفيريون والتي تشبه الإبرة. ويحمي هذا البروتين أطراف خيوط ح ن د للفاج من الدفاع البكتيري ضد الفيروس، أي ضد الإنزيم النووي الخارجي (exo V) exonuclease، الذي، في غياب منتج المورثة -٢، سوف يكسر ح ن د الفاج، بادئًا من عند الطرف الحر بعد الحقن بفترة وجيزة. ووظيفة أخرى للفاج، يعبر عنها مبكرًا في الإصابة: وهي التثبيط المباشر أي التثبيط الإنزيمي لإكسو -٥ (exo V)، ومن ثم، فلا يستطيع أن يهاجم ح ن د المخلق بوساطة الفاج، حديثًا.

وكما هو معروف، فإن فاجات ت -٤ و ت - الزوجية تثبط، أيضًا، نسخ مورثات العائل إلى ح ن ر رسول mRNA بعد بدء الإصابة بوقت وجيز. ويتحقق ذلك بوساطة إنزيم مشفر له بوساطة الفاج الذي يضيف نيوكليوتيدة أدينين ثنائي الفوسفات، واحدة مربوطة بالريبوز (ADP-ribose) كمكون من إنزيم بلمرة ح ن ر RNA polymerase للعائل. ولا يحدث هذا التحوير إضطرابًا في التعبير عن مورثات العائل، ولكنه يساعد في تحويل إنزيم العائل لإنتاج ح ن ر رسول خاص بالفاج، ربما عن طريق السماح لإنزيم البلمرة بأن يتعرف على المحفزات Promoters لمورثات

الجدول رقم (١٤). الأمثلة الواضحة على تثبيط الوظائف النوعية للعائل بوساطة فاجات البكتيريا.

الفيروس	وظيفة العائل	آلية التثبيط
ت٤ (T4)	نسخ مورث العائل	أدينوسين ثنائي الفوسفات الريبوزوي لإنزيم بلمرة ح ن ر تحور تعرف المحفز Modifies promoter recognition
ت ٧ (T7)	نسخ مورثات العائل	فسفرة Phosphorylation إنزيم مبلمر ح ن ر تثبيطه غير مباشر
ت الزوجية (T-even)	تخليق بروتين العائل	تثبيط النسخ
ت الزوجية (T-even)	تخليق ح ن د DNA	الإنزيم النووي يكسر القالب الذي ينقصه هيدروكسي ميثيل سيتوسين HMC
ت الزوجية (T-even)	تخليق ح ن د DNA	مثبطات تخليق نيوكليوتيدات سيتوسين
بي بي إس -٢ (PBS2)	جليكوسيليز Glycocylase يوراسيل ح ن د (يزيل يوراسيل من ح ن د)	مثبطات جليكوسيليز ح ن د
ت٤ (T4)	الإنزيم النووي الخارجي -٥ (EXO-V)	مثبط ينخلق مبكرا لحماية ح ن د الجديد
ت الزوجية (T-even)	مضاد الإنزيم النووي التحديدي Restriction لـ ح ن د للفاجات - الزوجية.	الجلوكوز على هيدروكسي ميثيل سيتوسين في ح ن د
ت٤ (T4)	مضاد الإنزيم النووي التحديدي لـ ح ن د لفاج ت -٤ (ذالب)	مثبط
ت ٤ (T4)	مضاد الإنزيم النووي التحديدي لـ ح ن د للفاجات ت - الزوجية (مرتبط بالغشاء)	إتصال الفيريون بالخلية يثبط الإنزيم النووي
ت ٣ (T3)	الإنزيم النووي التحديدي المعتمد على إس أدينوسيل ميثيونين S-adenosyl methionine (SAM)	إنزيم إس أدينوسيل ميثيونيز SAM ase

معينة، فقط، في الفاج كما أن بعض الفاجات ذات ح ن د DNA المزدوج الأقل تعقيدًا، مثل ت -٧، يمكن، أيضًا، أن تثبط نسخ العائل عن طريق تحوير إنزيم بلمرة ح ن ر RNA. ولكن في مثل هذه الحالة، يكون التحوير، فقط، بالفسفرة Phosphorylation، والذي يزيل نشاط الإنزيمين وفي نفس الوقت، ينتج الفاج إنزيم مبلمر ح ن ر المشفر به.

كذلك يعطب تخليق بروتين العائل مبكر في الإصابة بفاجات ت - الزوجية، أيضًا، ولكن ربما يكون هذا تأثرًا غير مباشر لتثبيط النسخ في العائل. ويكون ح ن ر الرسول، عادة، غير ثابت في الخلايا البكتيرية، إذ يحدث تكسير له بالأحماض النووية الخلوية، عادة، بحيث يسمح له بنصف عمر حياة بين دقيقة واحدة ودقيقتين فقط. ولهذا، فإن تخليق العائل للبروتين يتوقف، فقط، خلال بضعة دقائق إن لم يحل ح ن ر رسول جديد محل الذي تكسر.

وتصنع فاجات ت - الزوجية إنزيمات نووية من شأنها، أيضًا، أن تدمر ح ن د مزدوج الخيط للعائل. وهذا يعني أنه لا يتوافر سريعًا قالب لصناعة ح ن د أو ح ن ر للعائل. وعلاوة على الإنزيمات النووية، فإن من وظائف الفاج الأخرى إنهاء طي Unfold الكروموزوم البكتيري من التركيب النووي البروتيني المتكثف، وذلك قبل تكسيره. ومما تجدر الإشارة إليه أن الفاجات الأبسط من ت - الزوجية لا تملك القدرة على استهلاك ح ن د الخلوي الموجود سابقًا.

وكما هو معلوم سابقًا، فإن فاجات ت - الزوجية تحتوي على هيدروكسي ميثيل سيتوسين (HMC) في ح ن د الخاص بها بدلا من سيتوسين. بناء عليه، تلزم وظائف عدة للفاج بغية تخليق هذه المادة الخام Precursor من ضمنها تثبيط تخلق نيوكليوتيدات السيتوسين وأن تقوم الإنزيمات النووية المنتجة بالفاج، بتدمير ح ن د للعائل لأنه لا يحتوي على هيدروكسي ميثيل سيتوسين. وينطبق ذلك، أيضًا، على فاج PBS2 الذي يصيب البكتيريا العصوية *B. subtilis*، والذي يحتوي في ح ن د على يوراسيل بدلا من ثايمين.

(٢٧,١,٢) النظم التحديدية للعائل Host restriction systems:

من بين الآليات ضد الفيروسية للبكتيريا وجود إنزيمات نووية داخلية لـ ح ن د DNA endonucleases ذات تتابع نوعـي ، أو إنزيمـات تحديديـة Restriction enzymes. وتستطيع هـذه الإنزيمـات أن تميز بـين ح ن د البكتيري و ح ن د "الغريـب" Foreign للفيروسات (أو من أي مصدر) بسبب مجموعات ميثيل التي توضع على النيوكليوتيدات الرئيسية في تتابع التعرف Recognition sequence للإنزيمات النووية التحديدية Restriction endonucleases. ويتحقق هذا التحوير لـ ح ن د العائل بوساطة إنزيمات الميثيل Methylases. ولفاج ت ٣ استراتيجية مماثلة لكنها غير مباشرة.

(٢٧,١,٣) تثبيط القدرة التكاثرية للفاج Inhibitting of phage - replicating capability

تظهر كثير من الفاجات تثبيطًا لتكاثر الفيروسات الأخرى. إذ إن الفاجات قد تثبط أو تحور وظائف خلوية مختلفة. فإنه ، عقب الإصابة بفاج ما ، قد لا تستطيع الخلية ، بعـد ذلـك ، أن توفـر الخدمـات المطلوبـة لفـاج آخـر مختلـف. وتسـمى هـذه الظـاهرة **الاستبعاد التبـادلي Mutal exclusion**. وتوجـد ظواهـر مماثلـة مـع الفيروسـات النباتيـة والحيوانيـة يطلـق عليهـا **التداخل الفيروسـي Viral interference**. ولا يعـني ذلـك بـالضرورة أن الاسـتبعاد التبـادلي أو التداخـل الفيروسـي يثبـط وظـائف خليـة العـائل. بناء عليه ، فقـد ينتـج أحـد الفيروسـات منتجة تثبط مباشرة أو تكسر منتجـات فـيروس آخر ، لدرجة أن بعض الفيروسـات قـد تكـون مثبطة لذاتها تحت ظروف معينة. فمثلاً ، لا يستطيع فيريون مـن ت-٤ أن يصيـب خلية بعـد أن يكـون جـزيء مـن ح ن د لفـاج ت-٤ آخـر قـد بـدأ في النسـخ. ومـن ثـم ، يتكسـر ح ن د للفـاج الثـاني بعـد الحقـن وذلك بوسـاطـة إنزيمات صنعهـا الفاج الأول ، ويسمـى هذا **استبعاد الإصابة الفوقيـة Superinfection exclusion**.

(٢٧,١,٤) تحرر دقائق الفاج Release of phage:

بعد إنتاج كل مكونات الفاج وتجميعها في دقائق فيروسية جديدة داخل الخلية، لا بد أن توجد بطريقة أو بأخرى، آلية لتحرر الفيروس بحيث تسمح بإصابة خلايا أخرى. ويتضمن هذا تفتيت الخلية أو **التحلل Lysis**. ومع ذلك، فإن هذا التحلل ليس إجباريًا لتحرر كل الفاجات، والإصابة المنتجة للفاج fd الخيطي لا تقتل خلية العائل، إذ إنه، حال مرور ح ن د المفرد الخيط الدائري من خلال الغشاء الخلوي (الشكل ص٢٧١ كونرات)، يزيح بروتين الغطاء منتجًا جينيًا آخر للفاج وهو البروتين السكري -٥ (gpv) المرتبط مع ح ن د داخل الخلية. ووجود بروتين غطاء الفاج في سطح الخلية يبدل الصفات المناعية للخلية، إذ يسبب نشوء أنتيجينات جديدة New antigens (يمكن إثبات ذلك بوساطة اختبار الأجسام المضادة). وعلى الرغم من أن هذا النظام للتحرر غير شائع في فاجات البكتيريا، إلا أن العديد من الفيروسات الحيوانية تترك الخلية بعملية مناظرة تسمى **التبرعم Budding**.

ولو أنه إعتقد بأن سهولة خروج فاج fd تعود لكونه خيطيًا رفيعًا فلا تضار الخلية، لكن فاج فاي إكس -١٧٤، وهو إيكوزاهيدرالي من ح ن د مفرد، يستطيع أن يترك الخلية البكتيرية دون أن يحللها تمامًا، ولكن هذا يحدث، فقط، عند درجات حرارة أقل من الدرجة المثلى للنمو. وليس من الواضح ما إذا كان هذا يشير لوجود آليتين مختلفتين لتحرر فاج فاي إكس -١٧٤أم لا.

ويواجه تحرر الفيريونات في الإصابات التحللية العادية مشكلتان، هما: الغشاء البلازمي والجدار الخلوي. ومن المفترض أن مرور ح ن د للفاج fd يسهل له، بخواص معينة في مواقع من الغشاء تكون محملة ببروتينات الغطائين، وبالتالي، فإن هذا العبور لا يضر الغشاء، كما أن فيريونات fd الضيقة ربما تتوافق مع الفتحات الموجودة في الجدار الخلوي. أما بالنسبة للفيريونات الكبيرة التي تتكون داخل الخلية، فإنها لا تستطيع أن تعبر بحرية لا الغشاء السيتوبلازمي ولا الجدار، ولهذا، فإن الفاجات الكبيرة لا بد أن تشفر لمختلف الإنزيمات المحللة للغشاء السيتوبلازمي والجدار الخلوي.

ويمكن لبعض الفيروسات، فعلاً، أن تحلل الخلية دون أن تتكاثر فيها، فعلى سبيل المثال، تحتوي فيريونات ت٤ (T4) على نشاط إنزيمي يكسر، جزئيًا، طبقة عديد السكر الدهني Lipopolysaccharides (LPS) الموجودة كطبقة جدار خارجية تعلو طبقة ببتيدوجليكان Peptidoglycan في جدار *E. coli*. فعند حقن ح ن د الفاج داخل الخلية، لايحدث ذلك اضطرابًا في تكاملها لأن سيتوبلازمها لا يتسرب للخارج، ولكن عند عددية الإصابة Multiplicity of infection (m.o.i) العالية، يحدث العديد من الفيريونات (عدة آلاف) اتصالا بخلية واحدة وتحقن ح ن د الخاص بها داخل الخلية دفعة واحدة ومن ثم، يحدث العديد من الثقوب Punctures مما يسبب تحللاً جزئيًا لطبقة عديد السكر الدهني وضعفًا في الجدار وكذلك اضطرابا في الغشاء. وتكون النتيجة، هي **التحلل من الخارج Lysis from without**. الذي يكون في شكل انفجار فوري Instantaneous للخلية المصابة. ومن الواضح أن ح ن د المحقون في هذه الحالة لا يتكاثر.

أما أثناء الإصابات العادية، فإن وظيفة بعض منتجات المورثات الفيروسية التي تظهر مؤخرًا Late تكون من أجل تكسير الغشاء الخلوي **من الداخل from within**، ويؤدي هذا الدور المنتج الجيني (gene product = gp) gpt في فاج T4 و gp5 في فاج لامدا. أما الببتيدوجليكان، فإنه قد يهاجم بطريقتين: إذ ينتج فاج T4 **الإنزيم الهادم Lysozyme** (**ليسوزيم**) الذي يشطر مكون الجليكان، أما فاج لامدا، فإنه ينتج **المحلل الداخلي Endolysin**.

(٢٧,٢) التأثيرات الأحيائية للإصابات غير المنتجة

Biological effects of non-reproductive infections

(٢٧,٢,١) تولد التحلل Lysogeny

إن التحكم الذي يظهره فاج ت٣ T3 على وظائف التحلل ينتج عنه التواجد المشترك Coexistence لفاج وللعائل معًا لفترة قصيرة مما يسمى تولد **التحلل الكاذب**

Pseudolysogeny. أما تولد التحلل الحقيقي، فإنه يشمل ضبطًا وتحكمًا أكثر شمولا في وظائف الفاج مما يسمح لمورث الفاج لأن يبقى إلى مالا نهاية داخل الخلية المصابة دون أن يقتلها أو أن ينتج فيريونات. علاوة على ذلك، يصبح تكاثر مورث الفاج متوافقًا (متزامنًا) مع تكاثر مورث العائل، لذا، فإن الخلية العائل عندما تنقسم، ينتج، أيضًا، نسخة من مورث Genome الفاج في كل خلية بنوية. وتوجد أكثر من آلية تستخدمها الفاجات من أجل تزامن تكاثر مورثاتها مع مورثات الخلية العائل. وإنها، فقط، الفاجات التي تمتلك تحكمات قوية على طبيعتها الشرسة وعلى المتطلبات التكاثرية وهي التي تؤسس تولد التحلل Lysogeny، والتي تسمى، غالبًا، الفاجات المعتدلة Temperate، على عكس الفاجات الشرسة Virulent التي لا تؤدي، فقط، إلا إصابات منتجة. ومميزات هذه الطريقة البديلة Alternative من الحياة واضحة، إذ يتمكن الفيروس من التكاثر والانتشار في الطبيعة، بينما لا يزال هو باقيًا كلية في ملاذ Sanctuary خلية العائل، لكن بعض الاعتداءات القاتلة للخلية يمكن أن تستحث Induce برنامج الفاج العادي للإصابة المنتجة وبذا، فإنه يمكن للفيريونات الجديدة أن تهرب من الخلية الهالكة Doomed. وعلى الرغم من أن مورثات الفاجات المعتدلة (الهادئة) في البكتيريا مولدة التحلل Lysogens لا تؤثر على وظائف التكاثر الخلوية، إلا أنها قد تحدث تغيرات خلوية غير ذلك، مما قد يكون لها من تأثيرات أحيائية شديدة، ليس، فقط، على مولدات التحلل، ولكن، أيضًا، على الكائنات الأرقى التي تعمل كعوائل لهذه البكتيريا.

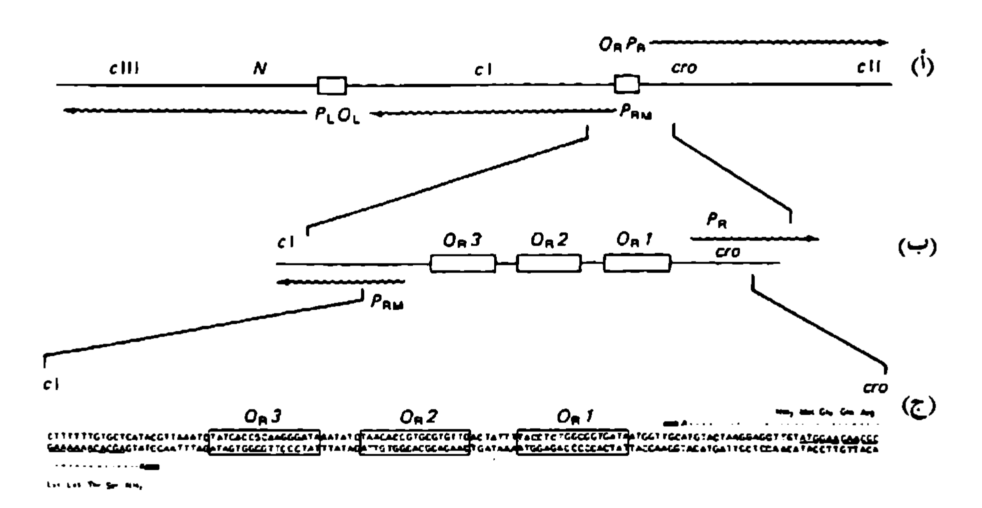
(٢٧,٢,٢) المناعة Immunity

يمكن التعرف على البكتيريا التي تحمل مورثًا Genome لفاج معتدل معين، وذلك عن طريق اختبار خاصية جوهرية لكل مولدات التحلل (lysogens = البكتيريا التي تحتوي على مورث لفاج معتدل والذي يمكن أن يتحرر ويتكاثر فتسبب الفيريونات الناتجة تحللا للخلية)، ألا وهي المناعة ضد الإصابة الفوقية Superinfection بدقيقة

أخرى من الفاج الـذي تحمله البكتيريا مولـدة التحلل. وتعـود هـذه المناعـة إلى الطبيعة المنتشرة لعناصر معينة في عمليات تحكم الفاج، والتي تختلف عن **الاستبعاد بالإصابة الفوقية** **Superinfection exclusion** بوساطة الفاج T4، من حيث كون ح ن د DNA المحقون من دقيقة فاج ثانية وعلى سبيل المثال، لا يتكسر مباشرة، ولكنه يمنع، فقط، من التعبير عن كل الوظائف التكاثرية. وعنصر التحكم Control element المسئول عن المناعة هو بروتين يسمى **كابحًا** **Repressor**، يمنع التعبير الجيني لفاج بسبب إرتباطه عند مواضع معينة من ح ن د. ويمنع هذا الارتباط نسخ Transcription معظم جينات الفاج فيما عدا جين الكابح نفسه وتحت معظم الظروف. ويعتبر فاج لامدا (λ) أحسن مادرس فيما يتعلق بنظام الكابح.

وتحتوي المنطقة المركزية من ح ن د لفيريون لامدا كل العناصر التنظيمية المسئولة عن تأسيس تولد التحلل Lysogeny والحفاظ عليه (الشكل رقم ٥٥). والتتابع المشفر Coding sequence للبروتين الرئيسي للكابح، وكذلك مواضع استقباله. وتوجد في نفس هذه المنطقة، منطقة تعرف، بالتالي، **بمنطقة المناعة** **Immunity region**. وعلى حين تبدو الروائق Plaques للامدا على حصيرة من البكتيريا القابلة للإصابة عكرة في المركز نتيجة للنمو المفرط بوساطة مولدات التحلل المنيعة Immune lysogen، إلا أن طفرات لامدا التي ينقصها الكابح لا يمكنها أن تؤسس تولد التحلل Lysogeny وبذا، فإنها تنتج روائق شفافة تمامًا Entirely clear، مثل الفاج الشرس. ومن هنا، جاء الرمز cI ليعني طفرة الرائقة الشفافة من قسم I والتي تمثل جين الكابح (وتوجد طفرات أخرى للروائق الشفافة التي يكون فيها نقص في جينات cII و cIII).

وكما سبق ذكره عن دورة حياة λ التكاثرية المنتجة، فإنه يوجد محفزان رئيسيان يمكن أن يبدأ عندهما النسخ بوساطة إنزيم بلمرة ح ن ر RNA polymerase، فقط، الخاص بالعائل، ويوجد هذان المحفزان على الجانب المقابل لجين cI ويلي هذين المحفزين، يسار P_L، يمين P_R، تتابعات إرتباط كابح cI.



الشكل رقم (٥٩). جينـات لامدا وعناصره الوراثية (أ) جزء من مورث لامـدا، تشـير الأسـهم إلى اتجاهات ونقط بدء نسخ مختلف المورثات Genes كل مـن O_R P_R و O_L P_L همـا المشغل Operator الأيمن والأيسر ومناطق المحفز Promoter. و P_{RM} هو محفز cI النشط في البكتيرة مولدة التحلل Lysogn. (ب) رسم تخطيطي مكبر لمنطقة λ O_R. وكل مـن O_{R1} ، O_{R2} ، O_{R3} هي كابحات ومواقع ارتباط مع CRO، كل منها طولها ١٧زوجا مـن القواعد النيتروجينية. ومبين نقط بدء النسخ من P_R و P_{RM}، الـتي تقـع خـارج المشغلات. وكما هو مبين بالشرح، فإن إنزيـم البلمرة Polymerase يرتبط بأي مـن مواقـع محفـزات Promoters الكابـح المتراكبـة Overlaps في المشغـل. (ج) التابع النيوكليوتيدي لمنطقة λ O_R. ومبين بداية ح ن ر الرسول لكل مـن CI و cro، وكذلك أجزاء الأحماض الأمينية الطرفية لمتابعات البروتينات المناظر.

(عن Ptashne et al. (1980) cell 19:1).

ويطلق على هذه التتابعات **المشغلات Operators** ، وهـي مـا تنـاظر تتابعـات التحكم ودورها يشبه النظام الجيني البكتيري المستحث Inducible ، أو ما يطلـق عليه **ضابط التشغيل "أوبيرون" Operon** ، الذي يشفر للعديـد مـن المنتجـات المسئولة عـن أيض اللاكتوز. ويتكون كـل مشغـل ، يسـار O_L ويمـين O_R ، مـن ثلاثـة مواقـع متشـابهة

لكنها مميزة (O_{L1}, O_{L2}, O_{L3} وهكذا)، ويمكن أن يرتبط بها الكابح في شكل بروتين ثنائي الجزيء Drimer. لذا، فإنه يمكن لستة من الجزيئات الأحادية Monomeric للكابح عند تتابعات O_{L1} و O_{R1}، والتي تغطى، فعلا، بإنزيم مبلمر ح ن ر عندما ترتبط بمحفزاتها التالية لأي من جين cro والتي تعرف بـ O_R إلى جين N والتي تعرف بـ O_L. كما يغطي، إنزيم البلمرة أيضًا، تتابعات قليلة عند الطرفين النهائيين للجينين اللذين يبدأ نسخهما، كما هو موضح في الشكل السابق لمنطقة O_R. بناء عليه، فإن الكابح يمنع التعبير المبكر لجينات لامدا بالتداخل Interferring المباشر مع إرتباط إنزيم بلمرة ح ن ر على تتابعات O_{R1} و O_{L1}.

وعندما يدخل جزيء ح ن د DNA لفاج لامدا أولاً إلى خلية لا تحمل، أصلا، مورثًا للفاج، حيث لا يوجد كابح، فإن النسخ يبدأ فورًا عند المشغل الأيمن P_R، والمشغل الأيسر P_L. ويبدأ النسخ من اليسار عند المشغل P_L منتجا ح ن ر رسول للمنتج الجيني N (gp N)، وهذا البروتين هو بروتين موجب التحكم Positive control protein والذي يجب أن يكون موجودًا ليسمح لإنزيم بلمرة ح ن ر بأن يستمر في النسخ من المشغل الأيسر P_L والمشغل الأيمن P_R مارًا بجينات الطرفين N أو cro على الترتيب، وبعدهما، إلى الجينات المبكرة المجاورة. والجين الذي يلي N هو جين تنظيمي آخر وهو cIII. حيث إن هذه المنتجات ليست ثابتة، لذا، فهي تكون غير متواجدة لتبدأ نسخ cI. ولكن هذا لا يوقف إنتاج الكابح، لأنه، من المدهش، أن ارتباط الكابح بموقع O_{R2} يكون له تأثير آخر هو السماح لإنزيم بلمرة ح ن ر بالبدء في نسخ لمحفز جين cI الذي كان ساكنًا Silent سابقًا. ويسمى "محفز cI، هذا الثاني P_{RM} (المحفز للحفاظ على الكابح Promoter for repressor maintenance) والذي يوجد بجوار موقع ارتباط الكابح O_{R3}، ولأن للكابح ميلاً أقوى بمواقع O_{R1} و O_{R2} عن موقع O_{R3}، لذا، فإن أول كابح يصنع بعد الإصابة يكون له ميل للارتباط، فقط، بمواقع O_{R1} و O_{R2}. ومن ثم، يستحث إنتاج مزيد من الكابح من المحفز المنشط حديثا.

بناء عليه، فإن كابح البروتين ينظم نسخ الجين الكابح بطريقة جيدة. ولا يقتصر التنظيم الذاتي Self or autogenous regulation لجين cI بوساطة منتجة على هذا التأثير الموجب أو المحفز، فإنه عندما يرتفع تركيز الكابح بدرجة كافية، فإن ذلك يسبب تشبع كل مناطق O_L و O_R بالكابح المقيد Bound ويؤدي ذلك للإيقاف اللحظي Momentarily لنسخ جين cI من المحفز Promoter القريب من O_{R3}. وعندما يهبط مستوى الكابح ثانية، يستأنف نسخ cI. بناء عليه، فإن جين cI يتحكم بدقة، أيضًا، في مستواه ذاته من التعبير داخل الحدود القصوى والدنيا، بالإضافة للتعبير الكابح للوظائف الخضرية أثناء تولد التحلل، ويصبح واضحًا أن فيضًا ضخمًا من الكابح في أوقات الطوارىء Emergency، لابد أن يمنع معاودة تنشيط Reactivation إنتاج الفاج، وبالتالي، فإنه قد يسبب اصطياد الفاج داخل مولدة التحلل التي تموت.

ما الذي يثبط فاج لامدا كل مرة من أن يؤسس تولدًا للتحلل في الخلية التي يصيبها؟ يمنع ذلك بوساطة منتج جين كرو cro، والذي تعني تسميته ضبط مشغل الكابح Control of repressor operon، إذ ينتج بروتينًا يرتبط مع ح ن د DNA bindeng protein الذي يعمل مثل الكابح. وينتج عن هذا، في الواقع، أن منتج كرو يرتبط مع ح ن د DNA لفاج لامدا عند مواقع O_L وO_R التي يرتبط بهما الكابح. ولكن منتج جين كرو، داخل O_R، يرتبط أولاً وبشدة مع O_{R3}، ومن ثم، يتداخل مع إنزيم بلمرة ح ن ر RNA polymerase الذي يحاول بدء النسخ لجين كرو عند المحفز Promoter القريب من O_{R3}. وعند وجود كميات كبيرة من منتج جين كرو، وفي غياب كابح كرو، فإن كل المواقع الثلاثة في O_R وكذلك O_L سوف تصبح مشغولة بمنتج جين كرو، ويسبب هذا تثبيط النسخ من كلا المحفزين الرئيسيين، بما في ذلك نسخ جين الكابح وحتى جين كرو ذاته. ولهذا، فإن جين كرو يظهر، أيضًا، في المعنى السالب. وفي الخلايا التي وهبت Commited نفسها للدورة التحللية Lytic cycle، فإن هذا التحور يحد من إنتاج، ليس، فقط، الكابح،

ولكن، أيضًا، يحد من منتجات الجين المبكرة في منطقة المناعة، وتكون كلها مطلوبة، فقط، بكميات صغيرة لإنتاج الفيروس.

وربما نتذكر أن جين كرو هو واحد من جينين يتم نسخهما أولا، مع جين N الذي يكون مطلوبًا لنسخ جينات CII، CIII. وبناء عليه، يتم تصنيع المنتج الجيني gP لكرو أولاً قبل وجود منتجات الجينين CII و CIII وذلك من أجل أن يبدأ نسخ جين CI. إلى الآن، لايزال المرء يتعجب كيف يتسطيع فاج لامدا (λ) أن يؤسس المناعة وأن يكون مولدًا للتحلل Lysogen؟.

وللإجابة عن هذا السؤال، نجد أنفسنا في خضم مشكلة أكثر عمومية، ألا وهي كيف يتخذ قرار بعد غزو فاج لامدا للخلية الحساسة من *E. coli* فيما يتعلق بأن تكون دورة الإصابة تحللية Lytic أو مولدة للتحلل Lysogenic ؟ ويأتي الجواب عن ذلك عندما لا يرتبط منتج جين كرو مع ح ن د لفاج لامدا، حتى عند O_{R3}، مثلما يتحد بشدة كابح cI. والواقع أن cII يكون، أيضًا، في مركز إتخاذ القرار، لذا، فإن أول جزيء من منتج بروتين كرو يرتبط بـ O_{R3} قد يسقط ويسمح بذلك لجزيء بلمرة ح ن ر RNA polymerase لأن يتقدم إلى جين cI. علاوة على ذلك، وإلى أن يصل منتج كرو لتركيز أعلى من الكابح، فإن موقع O_{R1} سوف يظل مفتوحًا للارتباط مع الكابح، وهي الخطوة الأولى نحو إغلاق كل وظائف الفاج الإنتاجية Phage productive functions، بما في ذلك كرو. ويبدو كما لو أن سباقًا يحدث بين نظامي كرو و cI للفوز بالتحكم في مورث فاج لامدا (λ genome) مبكرًا في الإصابة.

وإن أي عامل يمكنه أن يؤثر على نظامي هذين الجينين، مثل التأثير على النسخ Transcription، أو الترجمة Translation، أو إرتباط المنتجات البروتينية مع ح ن د، يمكن أن يحسم المعركة في إتجاه، أو في الاتجاه الآخر. وحيث إن جينات N و cII و cIII تؤثر على نسخ cI، لذا، فإن الظروف التي تغير التعبير عن هذه الجينات تدخل في التناقس الابتدائي بين نظامي الجينين cI وكرو. علاوة على ذلك، فإنه من

المعروف بأن جينات خلوية معينة تتفاعل مع عناصر التحكم لفاج لامدا. وتشمل هذه التعددات العالية High multiplicities للفاج لكل خلية عند الإصابة، وزيادة تركيز المغنيسيوم والتركيز الداخل خلوي العالي من النيوكليوتيدة التنظيمية المهمة المعروفة بأدينوسين أحادي الفوسفات الحلقي cyclic AMP.

الجدول رقم (١٤). ملخص لجينات التحكم لبكتيريوفاج لامدا ووظائفها.

الجين	المنتج	الوظيفة
١ - cII و cIII	بروتينات موجبة التنظيم لجين cI	مطلوبة لبدء نسخ cI الذي يبدأ عن يمين كرو cro ويتقدم لليسار مبكرا بعد الإصابة.
٢ - cI	كابح المشغلات operons الرئيسي للفاج	١ - الارتباط عند O_R1 يثبط نسخ كرو. ٢ - الارتباط عند O_L1 يثبط نسخ N. ٣ - الارتباط عند O_R2 يسمح بنسخ cI بادئا عن يسار O_R. ٤ - الارتباط عند O_R2 يثبط نسخ cI عن يسار O_R.
٣ - كرو Cro	المتحكم في كابح لامدا	١ - ارتباطه عند O_R3 يثبط نسخ cI عن يسار O_R. ٢ - الارتباط عند O_R . O_L يثبط نسخ كرو الجينات المبكرة الأخرى.
٤ - N	بروتين التنظيم الموجب	١ - مطلوب من أجل نسخ cII. والجينات الأخرى عن يسار N و cIII وجينات أخرى عن يمين كرو.

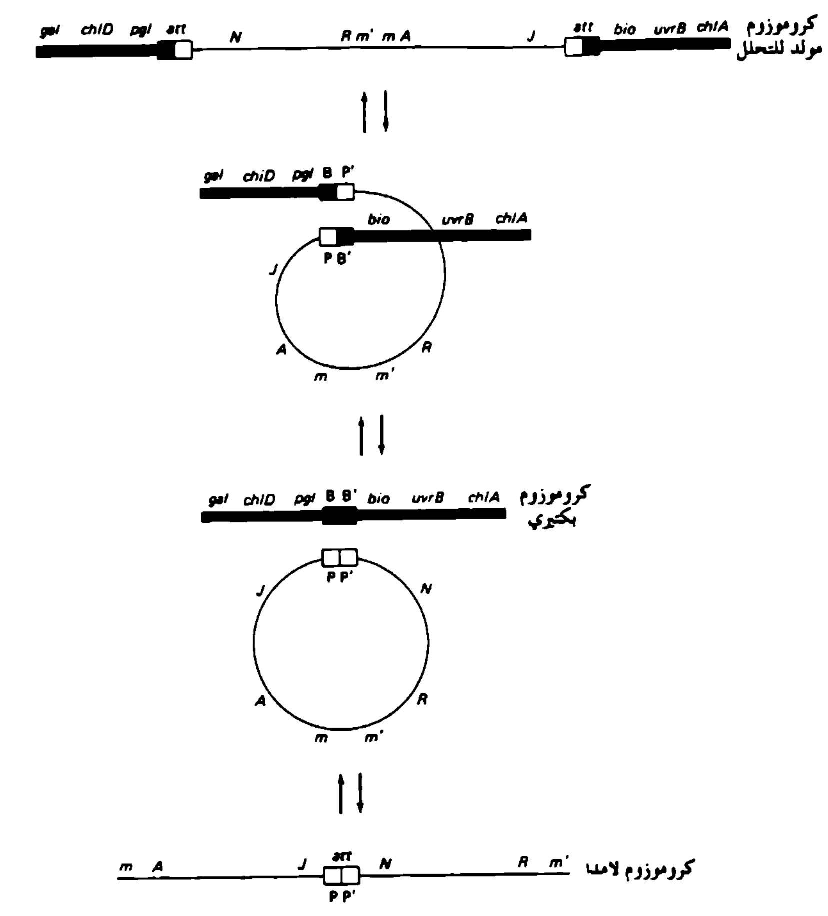
(٢٧,٢,٣) التكامل (الالتحام) Intergration:

عندما يكسب الكابح السباق ضد منتج جين كرو، ويكون قد تم قرار تولدالتحلل، فإن الفاج لا يستطيع أن يتكاثر. عندئذ، يكون فاج لامدا قد وجد طريقًا

لكي يصـل Attach ح ن د DNA للفـاج مع ح ن د DNA الخاص بخلية العـائل، ويبـدأ التكامل Intergration الذي يسمح لمورث فاج لامدا بأن يتكاثر كجزء من كروموسوم الخلية البكتيرية ويتوزع في الخلايا البنوية كما لـو أنه جزء من الكروموسوم البكتيري. ويبدأ ذلك بعد أن يتحلـق Circularizes ح ن د فاج لامدا عند دخوله الخلية المصابة، وذلك تبعًا للتتابعات المكملة عند النهايات مفردة الخيط للمورث الفيروسي والتي يطلق عليها مصطلح "لاصقة" Sticky. وللاتصال مع ح ن د للعائل، تتكسر دائرة فاج لامدا عند موقع نوعي بالقرب من الشكل الطولي Linear form للجزيء (انظر الشكل رقم ٦٠).

وينغلق كروموسوم الخلية البكتيرية الكبير في موضع نوعي واحد، ثم يلتحم الاثنان بعد ذلك في دائرة واحدة كبيرة.

ويوجد تماثل قليل في تتابع النيوكليوتيدات بين موقع الاتصال في كل من كروموسومي الفاج والعائل (نحو ١٥ نيوكليوتيدة). ومن الجدير بالذكر أن التبادلات الوراثية Genetic exchanges العادية بين خليتين أو فيروسين تتضمن تشابهًا أكثر بكثير في تتابعات جزيئات ح ن د التي سوف يحدث فيها كسر أو معاودة اتحاد Breakage and reunion. لذا، فإن تكامل ح ن د لفاج لامدا عند موقع الاتصال النوعي للعائل لابد أن يكون غير كفؤ Inefficient بدرجة كبيرة لولا أن مورث فاج لامدا يحمل جين الإلتحام int gene الذي يشفر لإنزيم الإلتحام Integrase الذي يعمل عاملاً مساعدًا في تفاعل موقع معاودة الارتباط Recombination ذي التخصصية غير العادية بين ح ن د الفاج والخلية. ويتطلب ذلك كلا من جين التكامل int و cI مع المحفزين المنفصلين، والذي يتم التحكم فيه بوساطة cII. وبمجرد أن يؤدي إنزيم الالتحام عمله، فإن مورث لامدا الملتحم، الذي يطلق عليه الآن اسم الفاج الأولي Prophage، يحتاج، فقط، لأن ينتج كابح cI ليظل مسافرًا مع الخلية العائلة إلى مالا نهاية.



الشكل رقم (٦٠). غرز وقطع λ. يمثل الخط السفلي ح ن د DNA لفاج لامدا كما يوجد في الفيريون. بعد الإصابة وتكوين حلقة، ينكسر ح ن د فاج لامدا عند موقع خاص هو pp ويعاد تربيطه Rejoined مع ح ن د البكتيري عند موقع خاص BB' وبهذا يوصل Splicing ح ن د لامدا مع إستمرارية الكروموسوم البكتيري. وعند القطع Excision، فإن الخطوة النهائية تعكس، حيث يتولد الكروموسوم البكتيري وجزيء ح ن د لامدا الدائري، والذي قد يتكاثر بعد ذلك معطيًا خلفه الفيرونات، والرموز الوراثية للبكتيريا هي: جال gal، وهو مجموعة من ثلاثة جينات تعمل منتجاتها في أيض السكر السداسي جالاكتوز Galactose . وجيني ch1D و ch1A واللذين تكون منتجاتهما إنزيم نيترات ردكتيز nitrate reductase، وغياب أيهما يجعل الخلية مقاومة للكورات تحت الظروف اللاهوائية، وجين pg1، وهو جين تركيبي لإنزيم فوسفوجلوكولاكتونيز Phosphogluco lactonase، وجين bio وهو مجموعة من ٥ جينات تشفر لإنزيمات ذات وظيفة في تصنيع فيتامين بيوتين Biotin، وجين uvrB الذي يعمل منتجه في إصلاح عطب ح ن د مثلما يحدث عند التعرض للأشعة البنفسجية.

ولإنزيم الالتحام موقع منفصل بشدة لمهاجمة ح ن د البكتيري، ولكن إذا كان هذا الموقع مفقودًا أو غير موجود، فإن ح ن د الفاج سوف يتمكن من أن ينغرز Inserted عند موقع آخر من كروموسوم العائل. وعلى النقيض، فإن لفاج ميو Mu، وهو فاج معتدل يصيب *E. coli*، قدرة غير عادية على الالتحام بكفاءة عالية في النهاية في أي موقع في ح ن د خلية العائل. وتوجد طريقة الالتحام هذه، غالبًا، في الفاج ميو والفاجات القريبة منه، كما يوجد، أيضًا، في صورة العناصر الوراثية المتحركة Mobile genetic elements في الخلايا حقيقية النواة، مما ينتج عنه اضطراب Disruption في جينات العائل، حيث قد يستبعد Eliminates وظيفة أو أكثر. بناء عليه، فإن فاج ميو يظهر تأثيرات بيولوجية قوية على العائل. وهو أحد العوامل المسببة للطفرة Mutagenic القوية المعروفة لـ *E. coli* (من هنا، جاءت التسمية). وأصبحت آلية الإلتحام العشوائي هذه مفهومة جيدًا حيث تتضمن قطوعات Cuts مفردة الخيط في ح ن د للعائل والتضاعف الجزئي لبعض تتابعات العائل بوساطة التكاثر ليكون مدّادات Stretches قصيرة متكررة مباشرة على أي الجانبين من الفيروس الأولي الملتحم.

وقد وجدت، حديثًا، بعض العناصر الوراثية الصغيرة جدًا (٦٠٠ إلى ٥٠٠٠ زوج من القواعد النيتروجينية في المورثات البكتيرية والتي تسمى **تتابعات الغرز (Insertion sequences IS)**. ولتتابعات الغرز هذه القدرة على تغيير مواضعها Relocate في مورث العائل، إما وحدها وإما جزءًا من عناصر أكبر تسمى العناصر النقالة Transposable elements **أو النقالات الوراثية Transposones**. ويبدو أن تتابعات الغرز IS تشفر لإنزيمات تحفز للالتحام عشوائي الموقع لتتابعات الغرز وللنقالات الوراثية المرتبطة بها. وإنه ليبدو - الآن واضحًا أن الفاج ميو يشبه نقالة وراثية كبيرة تصاحبها مكونات تتابعات الغرز الخاصة به، وبالمثل، فإن تتابعات التكرارات الطرفية Repeated terminal sequences لـ ح ن د للفيروس الأولي العكسي Retrovirus proviral DNA يكون وثيق الشبه بتتابعات الغرز البكتيرية. كما وجدت

النقالات الوراثية في مورثات العديد من الخلايا حقيقية النواة، وهي تعد، في الواقع، أصولاً تطورية محتملة للفيروسات العكسية التي تلتحم عن طريق الإنزيم النووي Nuclease ووظائف الإلتحام الخاصة بجين إنزيم البلمرة Polymerase للفيروسات العكسية والذي يسمى إنزيم النسخ العكسي Reverse transcriptase وذلك بإستخدام آليات مشابهة للنقالات الوراثية.

(٢٧,٢,١,٤) استحثاث تولد التحلل Induction of lysogen:

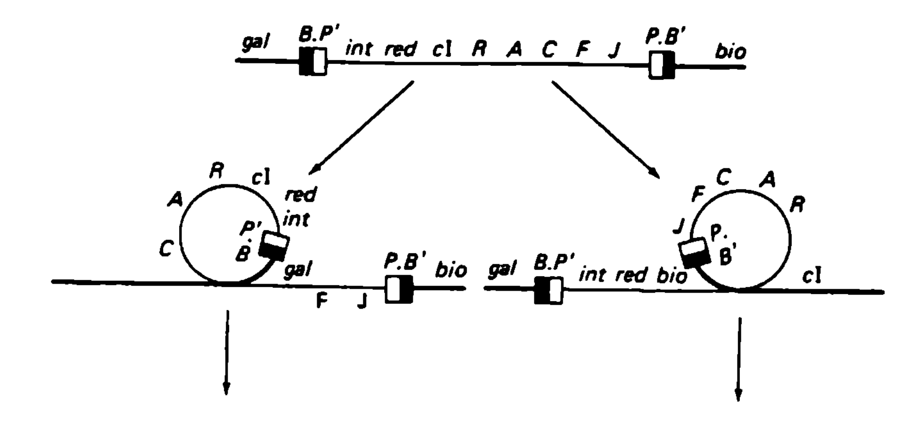
إن أحد مميزات الفاج المعتدل يكمن في قدرة الفيروس الأولي للعديد من البكتيريا مولدة التحلل وليس كلها، على استئناف إنتاج الفيريونات عندما لا يكون العائل قادرًا على البقاء أكثر من ذلك. وعودة مرة أخرى لاتخاذ فاج لامدا مثالاً على عملية الاستحثاث لأنه أحسن مثال معروف. إذ من الواضح أنه، من أجل أن يشرع الفاج ثانية Reinitiate في التعبير عن الجينات المسئولة عن المسار التحللي المنتج، فإنه يحتاج للتغلب على وظيفة كابح cI repressor بطريقة ما. وأحيانًا، يتضح أن الدائرة Circuit التنظيمية تفشل تلقائيًا. لهذا السبب، فإن عددًا قليلا في أي مزرعة مولدة للتحلل سوف تنتج فاجا وتتحلل. ومع ذلك، فإن العوامل التي تسبب عطبًا شديدًا لـ ح ن د العائل، مثل الأشعة فوق البنفسجية أو مايتومايسين – ج Mitomycin-C الذي يحدث ربطًا تقاليبًا (تصاليبا) Cross-linking بين خيوط ح ن د، يكون لها القدرة على استحثاث الفاج الأولي في كل خلية تتعرض له. وتحت مثل هذا التهديد المباشر لحياة الخلية، فإن نظامًا معقدًا Complex system من جينات العائل تطلق للعمل في وجود عطب فيح ن د. ومن بين الجينات الخلوية العديدة المستحثة تحت هذه الظروف، تلك التي تشفر للإنزيمات النووية Nuclease وإنزيمات أخرى تحاول إزالة أجزاء ح ن د المعيبة Faulty وأن تصلح أي كسور في كروموسوم العائل. وقد أطلقت على التأثيرات الكلية لهذا النظام تسمية رمزية هي **نظام الإصلاح صوص SOS repair system**. ويبدو أن منع الكبح Derepression لهذه المجموعة من جينات العائل تكون تحت تحكم

جين تنظيمي مفرد، هو ريك أ Rec A، والذي ينتج إنزيما محلالاً للبروتين Protease. ويمكن لهذا الإنزيم المحلل للبروتين أن يهاجم وأن يحكم جينات "ليكس أ" Lex A الخاصة بنظام صوص للعائل، والذي ربما يكون هو السبب في بدء نسخها. ومن الواضح أن الكابح cI قد نشأ حساسًا لإنزيم محلل البروتين الخاص بالعائل، وبهذا النظام، يتلقى الفاج الأولي تحذيرًا من العطب الذي سيصيب الخلية ويبدأ في إنتاج دقائق فيروسية جديدة.

ولكي يخدم الفاج الأولي كقالب مضبوط لإنتاج جزيئات جديدة من ح ن د لامدا، لا بد للفاج الأولي الملتحم من أن يُقطع Excised. ولا يمكن أن يتحقق ذلك بوساطة إنزيم اللحام Integrase، لأن مادتي الوسط له Substrates المشار إليهما سابقًا، وهي تتابعات موقع الاتصال على كل من الفاج والخلية البكتيرية لا يكونان متماثلين تمامًا. لذا، فإن منتجات معاودة الإرتباط بفعل إنزيم اللحام تكون هجينًا لكل من موقعي الاتصال اللذين يختلفان عن أي من مادتي الوسط. وينتج جين مبكر آخر هو جين "زيس" "Xis"، والموجود بعد جين الالتحام "إنت" "int"، إنزيمًا نوويًا هو إنزيم القطع Excisionase الذي يلزم معه "إنت" لفض التحام Disengage الفاج الأولي من كروموسوم العائل. ومرة أخرى، فإن هذه العملية تتضمن معاودة ارتباط مقلوب Reciprocal recombination ينتج عنه عمل حلقة Circularization من ح ن د فاج لامدا.

ومن هذه اللحظة، عادة ما يصبح البرنامج التحللي للتعبير عن الجين مشغولا بكامله، مؤديًا لتكوين الدقائق الفيروسية وتحلل الخلية العائلة. فإنه تحت ظروف معينة، عندما يظل تركيز الكابح عاليًا، قد يكبح الفاج الأولي المقطوع ثانية من قبل أن يشرع في نسخ وظائفه المتأخرة بوساطة جين "إن" "N". فإذا فشل الفاج الأولي في معاودة التكامل قبل أن يتكاثر ح ن د الخلوي وانقسام الخلية، فإن خلية بنوية واحدة سوف تتحرر من الفاج الأولي. وتعرف هذه العملية **بشفاء Curing الخلية من الفاج الأولي**، كما يمكنها أن تحدث تلقائيًا بمعدل منخفض أو بمعدلات مرتفعة تحت الإجراء التجريبي على مولدات التحلل.

وعلى الرغم من أن تفاعل القطع يكون، عادة، دقيقًا، إلا أن العملية تأخذ في بعض الأحيان منحنى منحرفًا Awry ويحدث القطع في أماكن أخرى على جانب مواضع الاتصال. فبالإضافة إلى ح ن د الفاج، قد تحتوي الجزيئات الحلقية الناتجة على ح ن د خلوي من مناطق مجاورة للفاج الأولي المتكامل (انظر الشكل رقم ٦١). وتشفر هذه المناطق في العائل العادي لفاج لامدا لجينات مسئولة عن أيض الجالاكتوز



الشكل رقم (٦١).تولد Genesis "جال" لامدا λ gal (لليسار) و "بيو" لامدا λ bio (لليمين) لفاجات موصلة Transducing بوساطة القطع الشاذ من لامدا مولد التحلل λ lysogen. ومن المفترض أن معاودة الارتباط Recombination تحدث عند قاع العقد Loops الدائرية. (عن كتاب "The Bacteriophag λ" تحرير هيرشي Hershy، ١٩٧١م).

"جال" gal، على أحد جانبي موقع الاتصال، وتخليق البيوتين (بيو bio) على الجانب الآخر. وحيث إن الأطراف اللاصقة "Sticky" لـ ح ن د فيريون الفاج تكون موصولة معًا في مركز الفاج الأولي المتكامل، فإن العديد من الحلقات المقطوعة بطريقة غير سليمة لاتزال تحتوي على هذه الأطراف، ويمكن أن تعلب Packaged في فيريونات الفاج، مع الأخذ في الاعتبار بألا يتجاوز طول ح ن د الكلي أكثر بكثير من جزيء الفاج الأصلي الطولي. وبسبب هذا التغيير، فإن معظم دقائق الفاج التي تحمل جينات

"جال" تكون قد فقدت بعض تتابعات الفاج وبهذا تصبح منقوصة Defective في بعض وظائفها الحيوية. ومع ذلك، فإن مثل هذه الدقائق يمكنها أن تتكاثر كما يمكن للفيروسات الأولية الناتجة عنها أن تلتحم وذلك بمساعدة من فاج أولي عادي. وعلى النقيض، فإن جينات "بيو" تكون أكثر قربًا من موضع الاتصال، لذا فإنه يمكن عزل مشتقات كاملة القدرة من لامدا التي تحمل جينات "بيو".

وعندما تعاود الالتحام أي من أشكال ح ن د لامدا هذه في كروموسوم جديد، فإن جينات العائل المرتبطة قد يعبر عنها مستقلة عن باقي جينات الفاج الأولي. فإذا كانت الخلية العائلة تحتوي بالطبع على نسختها الأصلية من جينات "جال" أو "بيو"، فإن مولدة التحلل هذه سوف يصبح لديها نسختين من نسخ جينات العائل تلك. وبعبارة أخرى، فإن مولدة التحلل سوف تكون ثنائية الصبغية جزئيًا Partially diploid في تلك المنطقة من الخريطة الوراثية. وقد تم إظهار مثل هذه المورثات "المجينات" (Genomes) الخاصة بالفاج بدرجة شديدة عند عمل تحاليل لتركيب ووظائف الجين. ويعد هذا النوع من النماذج، بصفة خاصة، الأكثر إفادة في مقارنة العيوب (الطفرات Mutations) في تتابعات نسخ الفاج والعائل. فإذا احتوت نسختان عيوبًا في جينات مختلفة، كلاهما يؤثر على نفس الوظيفة ككل (مثل: استخدام جالاكتوز)، فإن كل نسخة سوف توفر منتج الجين الغائب أو الناقص على حين لا تستطيعه الأخرى، وإن الخلية جزيئية الصبغية الثنائية سوف تكتسب ثانية القدرة الكاملة التي لا تستطيع أن توفرها أي من النسختين. وفي هذه الحالة بالذات، فإنه يطلق على نسختي تتابع العائل هذه مصطلح **مكملة Complement** لبعضها بعضًا. ويستخدم مثل هذا النوع من الاختبارات في مختلف النظم الميكروبية لتحديد عدد الجينات المميزة بتحكمها في صفة خلوية معينة. ويطلق على عملية نقل الجينات الخلوية من خلية إلى أخرى بوساطة الفاج مصطلح **التوصيل Transduction**. وأما في الفاج الأولي الذي يلتحم ويتكامل، فقط، عند موضع واحد، فإن الجينات التي يمكن توصيلها Transduced تكون، عادة، قاصرة على تلك المرتبطة بموضع الاتصال من كروموسوم العائل،

حيث يطلق على هذا النوع من نقل الجين **التوصيل المتخصص Specialized transduction**.

(٢٧,٢,٥) تولد التحلل بدون التحام Lysogeny without integration

على حين أن المناعة Immunity هي جزء شائع من العملية التي بها يمكن للفاجات أن تسكن في خلية العائل، إلا أن إلتحام الفاج الأولي لا يكون كذلك. فقد وجد أن ح ن د DNA لفاج p1 يكون مولدًا للتحلل في *E. coli* حيث يوجد كفاج أولي متكاثر حر عن كروموسوم الخلية العائلة. فالجينات التي تمكن p1 من التكاثر كبلازميد Plasmid أصبحت - الآن - معروفة تمامًا. ويمثل هذا نموذجا لتكاثر البلازميد بصفة عامة. وعلى الرغم من أن الفاج الأولي لا يرتبط فيزيائيا بـ ح ن د العائل، إلا أن تكاثره يكون وثيق التوافق مع إنقسام الخلية، لذا، فإن كل خلية تحتوي على نسخة واحدة، فقط، من الفاج الأولي p1 مع كروموسم الخلية العائلة. وليس من الواضح ما إذا كان كابح p1 يقفل كل وظائف التكاثر، مثلما هو الحال في ح ن د للفاج الأولي الملتحم بكروموسوم الخلية، أو أن ذلك يرجع إلى أن بعض وظائف الفاج يكون لها القدرة على المساهمة في تكاثر الفاج في الخلية المولدة التحلل Lysogen. ومع ذلك، فإن تكاثر جزيء ح ن د الحلقي يكون ذاتي التكاثر Self-replicating ويوجد في أنواع عديدة من البكتيريا. وتسمى مثل هذه الجزيئات بلازميدات Plasmids، ويمكن للبلازميدات أن تعبر عن بعض الجينات المسئولة عن تكاثرها. ويمكن لـ ح ن د للفيروس الحلمي Papilloma virus، وأيضًا، ح ن د لفيروسات حيوانية أخرى، أن يصبح ملتحما في الخلية أو يصبح بلازميدات.

وتحمل البلازميدات، غالبًا، عددًا من الجينات الأخرى ذات الأهمية التي من ضمنها تلك التي تكسب خلية العائل مقاومة Resistance لمختلف المضادات الحيوية. وبعض البلازميدات يمكن نقلها Transmissible من خلية لأخرى عن طريق عملية التزاوج Mating الخلوي والتي تعرف **بالاقتران أو التزاوج Conjugation**. وأكثر ما

يعرف من هذه هو ما يسمى عامل الخصوبة Fertility factor أو اختصارًا عامل إف F-factor في *E. coli*. علاوة على ذلك، فإن لبعض البلازميدات، بما فيها عامل الخصوبة، القدرة على الالتحام عكسيا Reversibly في مواضع نوعية من كروموسوم الخلية العائلة الرئيسي، ربما عن طريق تتابعات غرز "IS" تكون مرتبطة مع البلازميد أو البلازميد والخلية المضيفة. وتعرف البلازميدات التي تستطيع أن تتكاثر حرة أو كجزء من الكروموسوم بأنها **أجسام فوقية "إبيسومات" "Episomes"**. ولكن لا تحمل البلازميدات دائمًا نظمًا للتحكم Control systems يكون من شأنها أن تكسب الخلايا التي توجد فيها مناعة مثل تلك التي تضفيها الفاجات المعتدلة. كما أنها تتميز بوضوح عن الفاجات الأولية الحرة المتكاثرة في كونها تشفر لفيريونات تعمل كعربة ناقلة Transport vehicle داخل خلوية لجزيئات معينة من ح ن د. ومع ذلك، فلا يقتصر النقل الذي تقوم به الفيريونات على ح ن د DNA للفاج الأولي، فإن لفيريون الفاج p1 في الحقيقة قدرة غير عادية في التعليب العشوائي Random packaging لقطع من ح ن د العائل أثناء الإصابات التحللية. ومن غير الواضح الآلية التي يتم بها هذا التعليب، إلا أنه يمكن حقن ح ن د الخلوي في خلية عائلة جديدة ليعاود الارتباط (الاتحاد) Recombine مع مناطق مناظرة من ح ن د في كروموسوم الخلية المستقبلة، مستخدمًا المسارات العادية للتبادل الوراثي الخلوي. ويطلق على هذه العملية التي ينتج عنها إستبدال Replacement الجينات الموجودة بتلك المقدمة بوساطة الدقيقة الفيروسية التوصيل العام Generalized transduction، حيث يمكن، في الواقع، نقل كل جينات الخلية العائلة الأولى إلى الثانية.

وفي فاج لامدا (λ)، إذا حدث تثبيط لجينات الكابح (cI) والتنظيم الموجب (N) والتكامل int عن طريق الطفرة، فإن موقفا عجيبا ينشأ في الخلية المصابة، إذ يتم في هذه الحالة إعاقة Hindering للنسخ في الجينات المتأخرة المبكرة Delayed early اللازمة لتكاثر ح ن د وذلك بسبب نقص الضبط (التحكم) الموجب لمنتج جين N وبالتأثير المثبط لمنتج جين cro، ومع ذلك، فإن مستوى منخفضًا من تكاثر ح ن د يتم. وتكون نتيجة ذلك

أن الفاج الأولي للامدا يتكاثر حرًا كجزيء دائري من ح ن د. ومع ذلك، فإن التعبير عن الجينات المتأخرة والذي يكون مميتًا Lethal للعائل لا يتم حدوثه. ربما لأن منتج جين N يكون مطلوبًا لعمل بروتينات تحكم آخر تقوم بتشغيل Turn on الجينات المتأخرة. ولا يتوافق تكاثر بلازميد λ الجديد هذا مع التكاثر الخلوي، ولكن توجد عدة نسخ منه في الخلية ولذا، فإن أي خلية بنوية سوف تحتوي على نسخة واحدة، على الأقل، من بلازميد λ . ومن الجدير بالذكر أن أي تغير في قليل من ثلاثيات أزواج القواعد النيتروجينية من أل ٥٠,٠٠٠ التي يمتلكها، أصلا، فاج لامدا، تكون كافية لتحويل فاج لامدا الأولي إلى عنصر وراثي غير منيع، غير ملتحم، قادر على التكاثر، مشابه للعديد من البلازميدات غير النقالة Non-transmissible التي لا ترتبط بصلة مع أي من الفيروسات المعروفة.

(٢٧,٢,٦) مدى انتشار الفاجات المعتدلة Prevalence of temperate phages:

من المعروف أن عددا كبيرا من أنواع البكتيريا يؤي ويحتوي على فاجات معتدلة. كما أنه يجوز القول بأن معظم أنواع البكتيريا إن لم يكن كلها، يمكنها أن تودي دور العائل ولو لفاج معتدل واحد كما سيتم ذكره لاحقا.

من المعروف أن الكثير من الفاجات المعتدلة اكتشفت بنفس الطريقة التي تطبق في الفاجات الشرسة، وذلك باختبار المزارع عن وجود فيروس مكون لروائق Plaque-forming virus، والذي يكون موجودًا، عادة، بمعدل منخفض في المزارع المولدة للتحلل Lysogens. ومع ذلك، فبعد اكتشاف أن الكثير من الفاجات الأولية يمكن أن تستحث بكفاءة بالأشعة فوق البنفسجية، أو بوساطة مايتومايسين - ج Mitomyxin C، أدى ذلك لاكتشاف مزيد من الفاجات المعتدلة باستحثاث أنواع متباينة من المزارع البكتيرية. ومما تجدر الإشارة إليه، أيضًا، أن فاجات معتدلة معينة لا يمكن استحثاثها بهذه الوسائل، أي أن مثل هذه الطرق لا تكشف بالضرورة عن كل الفاجات الأولية المتسترة Occult. علاوة على ذلك، فإن المعاملات الاستحثاثية لبعض البكتيريا ينتج

عنها تحلل Lysis بدون إنتاج فاج معدٍ. وفي بعض الأحيان، يكون بمقدور هذا المتحلل Lysate أن يستحث ترويقاً Clearing لمساحات في حصيرة Lawn النمو البكتيري الحساس مشابهة لتلك الناتجة عن روائق الفاج الأولي، لكنها تكون عوامل قتل Killer agents تسمى القاتلات البكتيرية Bacteriocins = البكتيريوسينات، وهي لا تتكاثر في خلايا الحصيرة المصابة. وتحت المجهر الإلكتروني، يظهر العديد من هذه المحللات غير المعدية بأنها تحتوي على دقائق وثيقة التشابه مع الفاجات أو، على الأقل، أجزاء منها.

وفي بعض الأحيان، توجد "فيريونات" كاملة ذات رأس ممتلىء بـ ح ن د DNA وذيل متصل به، ولكنها، توجد في الأغلب، على شكل "رؤوس" إيكوزاهيدرالية تحتوي أو لا تحتوي على ح ن د DNA، كذلك قد توجد على شكل عصي تشبه الذيول (دقائق نوع آر R-type particles). أما المتحللات Lysates المحتوية على دقائق مرنة من نوع إف F-type praticles، فإنها تشبه الأغطية للفاجات الخيطية.

ما كل هذه الدقائق المتباينة؟ ومن أين جاءت؟: لا شك، أن العديد من هذه الدقائق التي تشبه الفيريونات هي شكل ما لفاج معتدل منقوص Defective temperate phage. ففي السلالة ١٥ من *E. coli*، وجد أن المتحلل الناتج عن الاستحثاث يحتوي على نشاط بكتيريوسين. إذ أوضحت الصور بالمجهر الإلكتروني وجود نوعين متميزين من الأشكال الشبيهة بالفاج والتي سميت فاي ١٥أ (ϕ15A) وفاي ١٥ - ب (ϕ 15B). ولفاي ١٥ - أ رأسا إيكوزاهيدرالي مع ذيل متقبض، على رأس، في حين أن فاي ١٥ - ب له ذيل قصير غير متقبض ورأس يشبه فاج كولاي بي-٢٢ (P22). وقد إتضح باستخدام طرق تهجين الحامض النووي أن كلا من فاي ١٥- أ وفاي ١٥- ب يحملان جزيئات مختلفة من ح ن د DNA ذات التتابع الفريد. كما أن ح ن د DNA في فاي ١٥- أ يكون تكراري الطرق Terminally redundant ودائم التغيير الدائري Circularly permuted مثل فاجات ت - المزدوج (T-even) وفاج بي -٢٢. ويعد فاي ١٥- أ مسؤولا عن نشاط البكتيريوسين في متحللات *E. coli*،

لكن من غير المعروف الطريقة التي يقتل بها الخلية دون أن يتكاثر. وعلى النقيض، فإن فاي ١٥ - ب لم يظهر أي قدرة على الاتصال بأي الخلايا البكتيرية التي تم اختبارها، ولذا، فإنه لا يظهر أي نشاط أحيائي.

لقد أصبحت قصة الفاج الناقص لـ *E. coli* ١٥ مثيرة للفضول بعد إكتشاف جزيء ح ن د DNA لبلازميد في بعض مشتقات هذه السلالة البكتيرية. وبعد عدة محاولات غير ناجحة لإيجاد علاقة بين هذا البلازميد وفاي ١٥-أ وفاي ١٥- ب، اكتشف أخيرًا أن هذا البلازميد، والمسمى بي -١٥ p-15 كان عبارة عما يزيد عن ٩٠٪ من التماثل مع فاج *E. coli* المسمى بي -١ p1 الذي سبقت الإشارة إليه، ومثل فاج بي -١، فإن بي -١٥ يشفر لنظام للتحوير التحديدي لـ ح ن د DNA Restriction modification system، المعتمد على إضافة الميثيل لـ ح ن د DNA methylation، مثل ذلك المشفَّر له بوساطة العديد من البكتيريا. ولكن التابع النوعي لنظامي بي-١ وبي -١٥ مختلفان. كما لم يلاحظ أبدا تعبير لجينات بي -١٥ بالنسبة للبروتينات التركيبية للفاج، ولكن قد يعزى هذا إلى حقيقة أن بي -١ ما هو إلا فاج لا يستحث بوساطة العوامل التي تضر ح ن د DNA.

وتحمل سلالات بكتيرية أخرى فاجات أولية Prophages بها أنواع مختلفة من العيوب Defects. فعلى سبيل المثال، تحتوي المتحللات المستحثة Induced lysates لمختلف سلالات باسيللاس ساتلاس *Bacillus subtilis* على العديد من الدقائق الشبيهة بالفاج الواضحة، إحداها تسمى بي بي إس إكس PBSX. ويتكون فيريون بي بي إس إكس من ذيل طويل متقبض متصل برأس صغير جدا باستطاعته أن يضم جزيئًا من ح ن د DNA مزدوج الخيط ذي وزن جزيئي ٨,٣ × ١٠^٦ دالتون، أو ما يزيد قليلا على ضعف المعلومات الوراثية الموجودة بأصغر مورثات (مجينات Genomes) الفاجات ذات ح ن د مفرد الخيط - s.s DNA. ومع ذلك، فإن ح ن د DNA المعلب ليس فريدًا في تتابعه إذ يتكون، فقط، من جينات خلوية. وعلى خلاف استحثاث الفاج المعتدل المنافس (الكامل) المقتدر Competent، فإن إستحثاث بي بي إس إكس لا يتطلب تصنيع ح ن د،

لهذا، فإن فيريونات بي بي إس إكس لابد أن تعلب ح ن د الخلوي سابق التكوين. وهذا يذكرنا بالفاج بي -١، (pI) Reminescent الذي يستطيع، من خلال مثل هذه العملية، أن يقوم بالتوصيل العام Generalized transduction لجينات العائل من خلية لأخرى. لكن فيريونات بي بي إس إكس لا تحقن ح ن د الخاص بها في العائل بعد الاتصال على سطحه.

وكما سبق ذكره، فإن بعض المتحللات المستحثة تحتوي على دقائق تشبه ذيول الفاج الحرة. ففي سيدوموناس إريوجينوزا *Pseudomomas aeruginosa*، يشارك عديد من البكتيريوسينات الواضحة الشكل مع التركيب شبه العصوي من النوع - آر (R - type)، وهو "غمد" Sheath متقبض يحيط بمحور" Core" أسطواني قد يحتوي، أو لا يحتوي على ألياف تشبه ح ن د DNA. ومن الواضح أن هذه البكتيريوسينات وثيقة الصلة بفاجات معتدلة لسيدوموناس لأنها تتفاعل تقاطعيا Cross-react في الاختبارات المناعية، كما ترتبط، أيضًا، البكتيريوسينات Bacteriocins بالخلايا مستخدمة نفس المستقبلات النوعية مثل الفاجات ذات الصلة بها. وتتكون هذه المستقبلات من الدهون عديدة السكر Lipopolysaccharides (LPS) مشابهة في ذلك تلك الخاصة بفاجات ت - الزوجية على سطح *E. coli*. وبعد عملية الاتصال، بالمستقبلات، فإن العديد من بكتيريوسينات النوع - آر التي تشبه الذيول المتقبضة تنقبض، ومع ذلك، فإنها لا تحقن أية مادة على الإطلاق.

ومن الواضح، أن تفاعل بكتيريوسينات النوع - آر مع المستقبلات، وربما مع الغشاء الخلوي المبطن، يكون كافيًا لقتل الخلايا التي تحمل تشكيلات الدهون عديدة السكر تلك. وفي كثير من الحالات، فإن آلية القتل لا تكون معروفة بالتفصيل، ولكنها قد تتضمن، غالبًا، التثبيط المباشر لتصنيع ح ن د DNA الخلوي و ح ن ر RNA و/أو البروتين. وغالبًا ما يكون ذلك عكسيًا، حيث يمكن للخلايا أن تشفى Recover إذا أزيل البكتيريوسين بوساطة المعاملة بإنزيم محلل البروتين Protease. كما تتداخل، أيضًا، بعض البكتيريوسينات مع آليات النقل النشط في الغشاء الخلوي أو تخفض مستوى مصدر الطاقة، وهو الأدينوسين ثلاثي الفوسفات ATP، داخل الخلية. ومثل هذا القتل الذي لا

يتضمن التحلل المباشر للخلية بعامل القتل، بالرغم من ذلك، يشبه عمل فيريونات عديد من الفاجات على عوائلها. فعلى سبيل المثال، حتى بعد إجبار فيريونات ت - الزوجية الحرة على أن تطلق (تحرر) بالقوة قبل تمام نضجها Prematurely ح ن د DNA الخاص بها وذلك بوساطة الصدمة الأسموزية Osmotic shock، فإن الدقائق المتبقية الفارغة (تسمى أشباحًا Ghosts) لازال في إمكانها أن تتصل بمستقبلات العائل، وأن تنتج تأثيرات قاتلة مطابقة تمامًا لتلك التي تسببها بعض البكتيريوسينات من النوع - آر (R-typle).

إن التشابهات الواضحة بين مختلف الفاجات المعتدلة، والفاجات الناقصة والبلازميدات والبكتيريوسينات تقترح بأن هذه العناصر الوراثية قد تكون ذات قرابة تطوريًا.

وقد تكون الرؤوس والذيول المنفصلة التي ترى في بعض المتحللات Lysates غير المعدية نواتج لفاجات أولية حدث فيها طفرات في الجينات التركيبية التي تشبه ما هو معروف عن النقائص في جينات رؤوس وذيول فاجات ت- الزوجية التي تمنع التجميع المضبوط للفيريون. ومن المعروف أن بعض الطفرات المنقوصة Deletion mutants للفاج تكون قد فقدت قطعا كبيرة من المورث (المجين Genome)، وربما تكون البكتيريوسينات من النوع - آر R-type هي نواتج لطفرات منقوصة لفاج والتي تحتفظ، فقط، بجينات لمكونات الذيل ومن المحتمل، أيضًا، جيناتها التنظيمية. وفي بعض الحالات، قد يحدث التعبير المستمر عن البقايا الصغيرة من مورث الفاج دون أن يكون ملحوظًا لأن المنتجات الشبيهة بالذيل قد لا تتحرر قبل أن يستحث تحلل الخلية بوساطة نوع آخر من الفاج الأولي الأكثر اكتمالا والذي يسكن في نفس الخلية. وفي أغلب الأحيان، لا يتم، مطلقًا، التعبير عن الجينات ذات الصلة بالفاج الموجودة في الخلايا، وتسمى هذه الفاجات **الأولية الخفية Cryptic** ويمكن الكشف عنها، فقط، عن طريق قدرتها على معاودة الارتباط Recombine مع طفرات لفاجات قريبة في عملية تبادل وراثي تعرف **بعلامة الإنقاذ Marker rescue**.

وعلى الجانب الآخر للعملة، فقد حاول العلماء تفسير الأصول التطورية للفاجات في مصطلحات من إعادة التنظيم التطوري Progressive reorganization لمختلف الجينات الخلوية في تجميعات تضم الجينات المتجاورة Contiguous genes المعروفة حاليًا بالفاجات الأولية. وتبعًا لوجهة النظر هذه، فقد نشأت البكتيريوسينات كأسلحة للحرب الداخلية بين البكتيريا. ويدعم هذا المفهوم وجود قسم من البكتيروسينات يتكون من جزيئات مفردة صغيرة من البروتينات وليس من دقائق كبيرة. ويمكن أن تنوع Typified هذه البكتيريوسينات الذائبة Soluble bacteriocins (S-type) بالعديد من الأمثلة النشطة في *E. coli* والتي تسمى **كوليسينات Colicins**. وبصفة عامة، فإنه يشفر لكوليسنات النوع الذائب بوساطة بلازميدات بعضها قابل للانتقال Transmissible من خلية لأخرى بنفس عملية الاقتران Mating الذي يكون وسيطا فيها عامل الخصوبة إف F-factor، ويكبح التعبير عن مورث (مجين Genome) الكوليسين، لذا فإن آلية النقل نادرًا ما يعبر عنها، وإن استحثاث إنتاج الكوليسين يكون قاتلا، غالبًا، للخلية التي تحمل بلازميد الكوليسين. وبالطبع، تعد طبيعة مورثات البلازميد وأجهزتها التنظيمية دليلا على أن الفاجات الأولية وعوامل الكوليسينات ذات أسلاف تطورية مشتركة. ويمكننا الأخذ في الاعتبار للأصول المحتملة للعضو شبه العضوي الذي يقوم بنقل ح ن د DNA البين خلوي أثناء **الاقتران Conjugation**، ألا وهو **الوبرة Pilus**، والذي يشفر له Encoded بوساطة العديد من البلازميدات. ومن الواضح أن تشابهه التركيبي والوظيفي مع الأغطية الحلزونية المرنة للفاجات الخيطية يعطي سببًا إضافيًا للاعتقاد بأن البلازميدات والفاجات الأولية إن هما إلا متباينات لخط تطوري واحد - هو التبادل الكفء للمعلومات الوراثية بين الخلايا ذات القرابة. بناء عليه، فإن جزيئات ح ن د DNA الدائرية الصغيرة التي لا تعرف وظائفها والتي توجد في العديد من البكتيريا، قد تمثل وصلات تطورية بين الفاجات الأولية وبين أبسط البلازميدات التي لا تكون قادرة تمامًا على توفير النقل البين خلوي أو حتى التكاثر الذاتي.

(٢٧,٢,٧) تحول النمط المظهري للعائل Conversion of host phenotype

تشير بعض الكتب إلى التحول في الخواص البكتيرية بوساطة الفاجات المعتدلة، ولكن من الواضح أن الإصابة بأي فيروس، حتى الفاج الشرس، تبدل بعض خواص العائل بطريقة أو بأخرى (حتى ولو أن الخلايا لم تعش لتعبر عن ذلك لفترة طويلة). وفي هذا الإطار، لا نستطيع أن نغفل تغيرات الغشاء الثابتة في تلك الخلايا التي تخرج Extrude الفاج إف دي (fd) الخيطي. كذلك تحدث متغيرات خلوية عديدة نذكر منها:

١ - تقديم النظام التحديدي لـ ح ن د النوعي للفاج، مثل الفاج بي -١(p1)، الذي يحدث طفرات تتم عن طريق غرز Insertion الفاج الأولي ميو Mu.

٢ - إضافة نسخ إضافية من المعلومات الوراثية الخلوية التي تحمل إلى داخل الخلايا بوساطة الفاجات الموصلة Transducing phages.

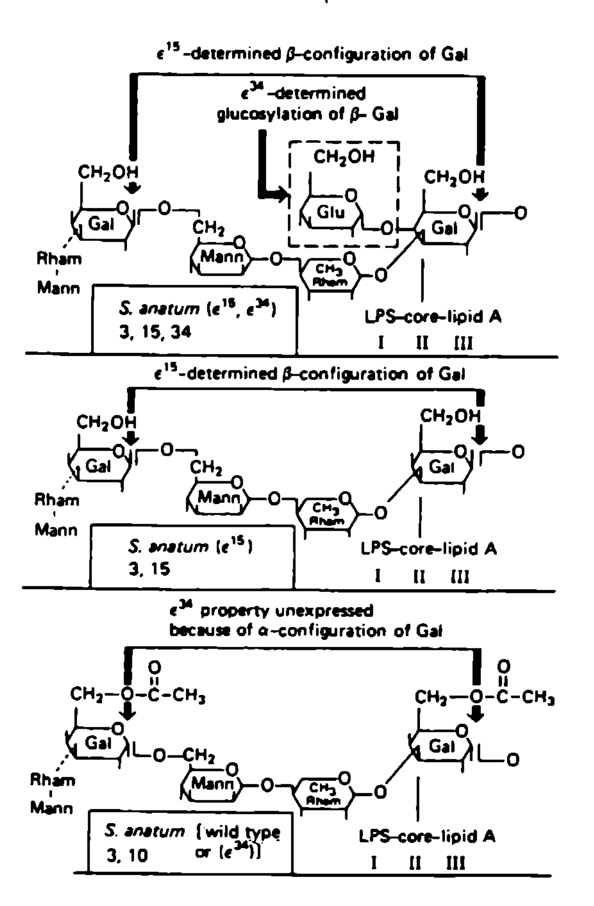
٣ - الوظائف التي تنتج تحللا خلويا استجابةً لعطب ح ن د.

٤ - المناعة ضد الإصابة بوساطة فاج من نفس النوع أو قريب منه بحيث يكون له نفس تخصصية الكابح.

٥ - قد تكون بعض مولدات التحلل Lysogens مقاومة للإصابة بفاجات غير ذات قرابة. فعلى سبيل المثال، يعبر الفاج الأولي لامدا المكبوح عن جين واحد، على الأقل، بالإضافة إلى جين (سي١) c1 وجين الرائقة الشفافة واحد، وجين ركس (rex) الذي يثبط تكاثر طفرات الفاج ت-٤ المنقوصة في وظيفة جين آر -٢ (rII) الخاص بالتحلل السريع Rapid lysis. ولكن هذا النوع من التغير الأحيائي للعائل، ما هو، في الحقيقة، إلا حالة استبعاد **Exclusion** للفاج بوساطة فاج آخر، ولكنها، علاوة على ذلك، لا تعد شكلا من التحول في النمط المظهري. إنما يحدث الفاج تغيرات جوهرية في خواص السطح البكتيري أو في الصفات الوراثية المرضية وهذه هي التي تعد، أصلا، تحولات في النمط المظهري المستحث بفاج البكتيريا وهذه تتضمن مايلي:

١ - التغيرات في سطوح الخلية Changes in cell surfaces:

يتضمن المثال التقليدي على تبديل الفاج الأولي لسطح مولدة تحلل Lysogen ما يحدث من تبديل الجزيئات الطرفية Residues لعديدات التسكر من عديد التسكر الدهني LPS في السالمونيلا. فقد تحقق في أوائل الستينيات من القرن العشرين أن فاجات عديدة مختلفة تحور التعبير في تركيب الأنتيجينات المحدودة والمعروفة باسم الأنتيجينات الجسدية أو "أو" Somatic or O - antignes. وتستخدم هذه الأنتيجينات للتعرف على السلالات المختلفة أو لأنواع Types البكتيريا بوساطة تفاعلاتها مع أمصال مضادة Antisera نوعية تشخيصية Diagnostic. وتعزى التحولات التي تحدثها مجموعات من الفاجات، تعرف باسم **فاجات إبسيلون Epsilon phages**، إلى منتجات تتداخل مع تصنيع الأنتيجين. وقد تكون هذه المنتجات مثبطات لإنزيمات خلوية نوعية مسئولة عن بلمرة Polymerization السكريات المكونة للأنتيجينات السطحية، أو أنها تكون إنزيمات الفاج المشابهة لإنزيمات العائل مع اختلافات نوعية فيما يتعلق بأنواع السكر المربوطة Linked أو بأنواع الربط الداخلي بين السكر Intersugar linkage (الشكل رقم ٦٢). وأيضًا، فإن الإنزيمات البكتيرية التي تحور، كيميائيًا، السكريات السطحية عن طريق إضافة مجموعات الأسيتيل، يمكن، على سبيل المثال، أن تثبط بواسطة بعض فاجات إبسيلون. ومنذ ذلك الوقت، ظهر أن التنويع الأنتيجيني البكتيري لأنواع أخرى يحدث فيه تبديل استجابة للإصابات توليدية التحلل. فقد وجد، حديثًا، فاجات معتدلة في العديد من سلالات *Vibrio cholerae* المسئولة عن مرض الكوليرا الذي يصاحبه إسهال شديد محدثًا نسبة عالية من الوفيات بسبب جفاف الضحية. وقد أدت محاولة التعرف على السلالة أو السلالات المسببة للوبائيات Epidemics، بالتالي، إلى مصدر العدوى. ويمكن إرجاع هذه المشكلات إلى التحول في الأنتيجينات الجسدية التي يكشف عنها بالتنويع المصلي Serotyping بوساطة تحضيرات من الأجسام المضادة. ويمكن لهذا الشكل من التحول بالفاج أن يسبب مشكلات في تطور فاجات ضد بكتيرية لأنها توفر وسائل للتباين الأنتيجيني السريع داخل عشيرة من البكتيريا الممرضة.



الشكل رقم (٦٢). التحويرات التي يحدثها فاج البكتيريا في السلاسل الجانبية من عديد السكر الدهني للأنتيجينات الجسدية O-antigens في سالمونيلا أناتام ***Salmonella anatum***. الوحدات المتكررة مانوسيل **mannosyl** – رامنوسيل **rhamnocyl** – جالاكتوسيل **galactosyl**. ويعد المانوز هو السكر السائد مناعيًا لعامل ٣ الأنتيجيني. ولسالمونيلا أناتام البرية ٣ و ١٠، ٣ و ١٠ (Σ٣٤) مجموعة أسيتيل على جال من الرابطة ألفا في ثلاثية السكر (مان – رام – جال). ويمكن لفاج (Σ٣٤) أن يتحكم في غرز البدائل الجليكوسيلية على وحدات جليكوسيل، فقط، عندما تكون في التشكيل بيتا، قارن السلاسل الجانبية لعديد السكر الدهني في سالمونيلا أناتام (Σ٤٣ و Σ١٥) في الشكل العلوي مع ٣، ١٥، ٣٤ لسالمونيلا أناتام (Σ٣٤) السفلي. ويتحكم إيسيلون ١٥، ٣، ١٠ في: (١) تثبيط إنزيم ناقل أسيتيل **transacetylase** المسئول عن أنتيجين ١٠ للأسيتيل – جالاكتوز و (٢) إنتاج مثبط لإنزيم البلمرة الذي يقوم بعمل الربط بيتا في الخلية البكتيرية و (٣) تصنيع إنزيم بلمرة الربط بيتا. وكل السلاسل الجانبية من عديد السكر الدهني ترتبط بجزء من غشاء الخلية يسمى المحور، وبالتالي، خلال ليبيد أ، مع بروتين الجدار الخلوي.

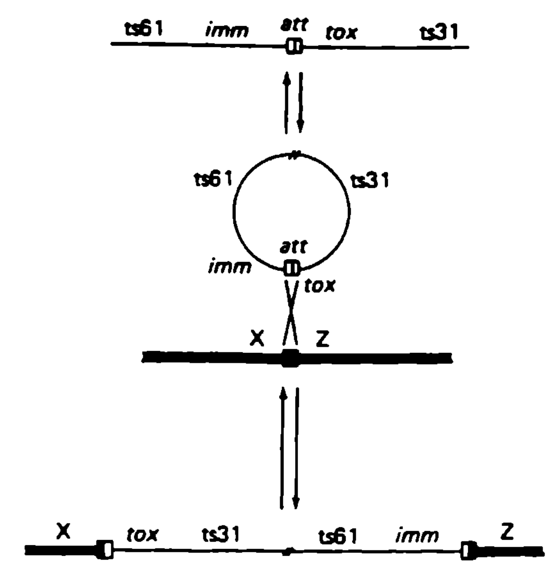
وللتحول بالفاج للأنتيجينات السطحية التي تعزى إلى تعديلات في عديد التسكر الدهني LPS عاقبة أخرى مهمة على البكتيريا مولدة التحلل: إذ تغير من استعدادها للإصابة بالفاجات. وفي هذا الصدد، فإن فاجات إبسيلون توضح، أيضًا، هذه النقطة، حيث إن نفس المكونات السكرية على سطح عديد التسكر الدهني تتغير بوساطة كل فاج، لأنها تكون جزءًا من المستقبل الخاص بنفس سلالة الفاج، فعند استبعاد مستقبلات الفاج، يوفر التحول حماية قيمة مضافة لتعزز سكني الفاج الأولي. وتنطبق هذه الحماية ليس، فقط، لأقارب الفيروس العاديين، والتي يتوقع أن تكون مكبوحة بوساطة نظام الفاج الأولي التنظيمي، ولكن أيضًا، ضد الطفرات الشرسة Virulent mutants التي يمكن أن تظهر في الفاج المعتدل بوساطة الطفرة في مواقع ارتباط الكابح إلى شكل لا يعمل. وتسمى هذه الآلية ذاتها التي تظهر عند المقاومة للإصابة الفوقية (بمعنى تحوير المستقبلات) "المناعة" "Immunity" حيث إنها تستخدم، أيضًا، سلاحًا للدفاع عن النفس ضد خلايا قادرة على إنتاج البكتيريوسينات. ويمكن أن يؤخذ هذا دليلاً إضافيًا على العلامة الوظيفية بين الفاجات الأولية وعوامل البكتيريوسينات.

التحولات الممرضة Pathogenic Conversions

يحدث تغيران مدهشان ذوا مغزى طبي في النمط المظهري للعائل البكتيري بوساطة الفاجات الأولية في بكتيريا الخناق *Corynebacterium diphtheriae* وبكتيريا التسمم الوشيقي *Closteridium botulinum*. فهذان الكائنان الممرضان ينتجان اثنين من أشد السموم البروتينية فتكا، والتي تعرف بالسموم البكتيرية **أي التوكسينات Toxins** وهما المسئولان عن التهاب الحنجرة المعروف **بالخناق (الدفتيريا) Diphtheria** ومرض التسمم الغذائي Food poisoning المعروف **بالتسمم الوشيقي Botulism** على الترتيب. وفي كلتا الحالتين، فإن فحص متباينات من البكتيريا غير مولدة للسم أدى لإكتشاف أن هذه البروتينات السامة ما هي، في الواقع، إلا

منتجات للفاجات الأولية الـتي تسكن ، فقـط ، في السـلالات السـامة. وقـد وجـد أن الفاجات المنتجة لسم الدفتيريا هي مجموعة تسمى بيتا. ومـن الواضـح أن إنتـاج السـم يكون بدون أي تأثير تنظيمي سواء من الفـاج الأولي أو مـن الخليـة ؛ فالخلايـا مولـدة التحلل المكبوحة تنتج سمًا بنفس المقدار الذي تنتجـه الخلايـا المصابة تحلليًا. وعندمـا تثبط المصادر الغذائية المحدودة تنمو الخلية وتختزل التصنيع الكلـي للـبروتين بنحـو ١٠ مرات ، فإن الخلايا مولدة التحلل لا تزال تنتـج السـم الغذائـي حيـث يكـون لـه تأثـير محور على التعبير عن جين السم Toxgene. وقد يعـود اعتمـاد التعبـير عـن جـين السـم إلى علاقته بموضعه من مورث (مجـين) الفـاج بيتـا (الشـكل رقـم ٦٣). ويمثـل تشـكيل المورث العام ذلك الخاص بالفـاج لامـدا الأولي الملتحـم ، حيـث توجـد منطقـة مناعـة تخصص لكابح موجود في المنتصف. ويوجـد جـين السـم tox على أحـد طـرفي الفـاج الأولي المغـروز ، في منطقـة لا تكبـح مباشـرة في الفـاج لامـدا الأولي الملتحـم ولكنـها تكون غير نشطة بسبب كبـح جـين N موجـب التنظيـم. ومـن الواضـح أن لجـين السـم مبدئه Promoter الخاص ، الذي يتم التعرف عليه بواسـطة إنزيـم بلمـرة ح ن ر RNA polymerase البكتيري دون مساعدة من وظائف الفاج.

إن استقلال النسخ ، علاوة على موقـع جـين السـم على طـرف ح ن د للفـاج الأولي ، يقترح أن فاجات بيتـا الـتي تحمـل جـين السـم tox تكـون ، فعـلاً ، نوعًـا مـا مـن الفاج متخصص التوصيل Specialized transducing phages. ولم يكتشـف أي جـين نشـط منتج للسم في الكروموسوم البكتيري. بناء عليه ، فإن جين السـم يكـون قـد حـدث فيـه تغير ملحوظ أثناء التطور منذ أن ارتبط مـورث الفـاج بيتـا ، أو بـدلاً مـن ذلـك ، ربمـا أن جين السم يكون قد ظهر بسبب تضاعف جين تركيبي للفاج وقـد حـدث فيـه مزيـد مـن التطور في أحد نسخه. وبغض النظر عن أصل جين السم ، فقد ظهر أنه يمكـن أن ينتشـر بطريقة ما إلى عديد من الفاجات غير ذات القرابة ، ومع ذلـك ، فإنـه لا يقـدم أي فـائدة للفاجات ، حيث إنها كاملة الحيوية بدون جين السم.



الشكل (رقم ٦٣). نموذج نظري لالتحام الفاج الأولي بيتا β prophage في كروموسوم كوريني بكتيريام دفثيري.
إن الآلية العامة لتحليق ح ن د الفاج (الخط الرفيع) مع الكروموسوم البكتيري (الخط السميك)، وترتيب جينات الفاج الأولي دائمة التغير permuted قد تم تدعيمها بدليل وراثي. وتشمل العلامات الوراثية لفاج: ts 61. Ts 31 طفرات حساسة للحرارة منقوصة في التكاثر Imm = منطقة المناعة tox; immunity جين السم، أما X و Z فهما من جينات العائل.

وهل من فائدة لجين السم بالنسبة للخلية البكتيرية؟ لقد اتضح أن جين السم يعطي ميزة للخلية العائلة، على الأقل، تحت ظروف بيئية معينة. وتجد هذه الفكرة تدعيمًا من الملاحظة بأن انتشار التطعيم في البشر بالأشكال النشطة من طفرات في بروتين السم لمنع بكتيريا الخناق *C. diphtheriae* من إحداث الخناق لم تعد موجودة في الفلورا البكتيرية العادية لدى البشر سواء في الزور أو في الأنف أو البلعوم.

كما أن التحول المستحث بالفاج قد يكون سببًا في النمط الشائع للإمراض البكتيري. فإن بعض أنواع البكتيريا السبحية Streptococci (مجموعة أ، محللة الدم من النوع بيتا haemolytic β) يوجد بها سمًا مولدًا للحمرة Erythrogenic (أي يستحث

احمرار الأنسجة المتأثرة)، وإن هذا السم يكون مسؤولا عن حالة مرضية تسمى الحمى القرمزية Scarlet fever. وحيث إنه وجدت سلالتان من الفاجات المعتدلة يمكنهما أن يحولا البكتيريا السبحية مجموعة أ من غير مولدة التحلل إلى سلالات بكتيريا عنقودية Staphylococci تنتج سموما محللة للدم Haemolytic toxins، ولكن، في هذه الحالة، فإن التحول بوساطة الإصابة مولدة التحلل بفاج معين ينتج عنها قفل إنتاج السم. كما أنه، في بعض الإصابات، يحدث تغيرًا في النمط المظهري الخلوي تزامنيًا Simultaneously كإستحثاث إنزيم ستافيلوكينيز Staphylokinase الذي يمكنه أن ينشط بلازمينوجين Plasminogen وبهذا يطلق نظام تضاد الجلطة Anticlotting system في دم الشخص المصاب. وليس من المعروف بالضبط - حتى الآن كيف يحدث الفاج أيًا من هاتين الوظيفتين.

وحيث إنه أصبح واضحًا - الآن - أن التوكسينات التي تصنف على أنها ذات أصل بكتيري إن هي إلا منتجات جينية للفاج، فإنه ليس ما يبعث على الدهشة عندما تضاف سموم أخري إلى هذه القائمة في القريب العاجل. إذ إن تولد التحلل بفاجات معينة قد ارتبط بإنتاج سم الكوليرا Cholera toxin على سبيل المثال: على الرغم من أنه لم يتم حتى الآن التعرف على جين نوعي لفاج لهذا البروتين.

الفصل الثامن والعشرون

بعض أمثلة من الفيروسات البكتيرية
Some Examples of Bacterial Viruses

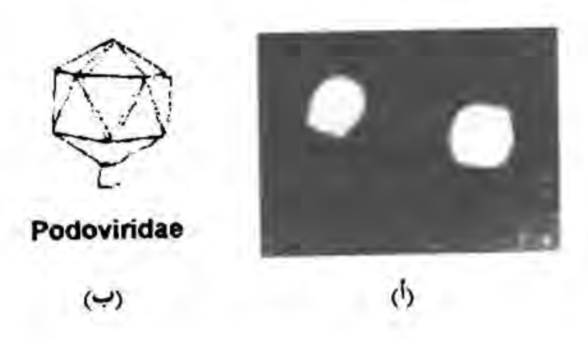
(٢٨,١) فاجات البكتيريا ذات ح ن د مزدوج الخيط
Double-Stranded DNA Phages

يحتوي العديد من الفيروسات البكتيرية على مورثات (مجينات Genomes) من ح ن د مزدوج الخيط d-s DNA. وقد كانت هذه هي أولى الفيروسات البكتيرية التي اكتشفت، كما أنها أكثرها من حيث الدراسات الكثيفة والعملية. ومع هذا، يوجد مدى واسع من أنواع هذه الفيروسات مع وجود نظم متباينة من التكاثر. ومن أمثلة فاجات البكتيريا هذه:

(٢٨,١,١) فاجات البكتيريا الشرسة Virulent Phages
(٢٨,١,١,١) فاج البكتيريا ت -٧ Bacteriophage T7

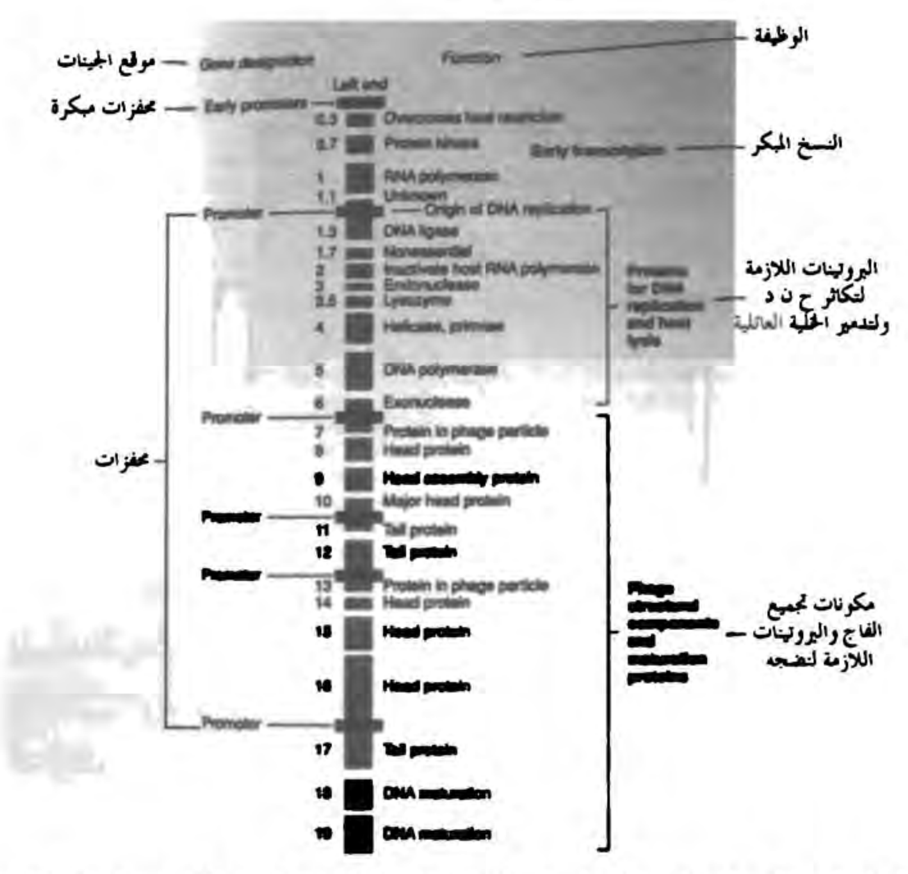
يعد فاج البكتيريا ت -٧ وكذلك وفاج البكتيريا ت -٣ الوثيق الصلة به، من فيروسات ح ن د الصغيرة نسبيًا التي تصيب *E. coli* مع ملاحظة أن بعض أنواع من شيجيللا *Shigella* وباستوريللا *Pastuerella* تعد، أيضًا، عوائل لفاج ت -٧، وللفيروس رأس إيكوزاهيدرالي وذيل قصير جدًا (الشكل رقم ٦٤). والذي يتبع عائلة Podoviridae (القدمية) والوزن الجزيئي للدقيقة الفيروسية هو ٤٥ × ١٠^٦ نصفها من المادة الوراثية. والدقيقة الفيروسية معقدة إلى حد ما، وتحتوي على ٥ أنواع

مختلفة من البروتينات في الرأس و ٣ - ٦ بروتينات مختلفة في الذيل. ويستخدم الفيروس بروتين الذيل ليقوم بالاتصال به على المستقبلات. وتصاب خلايا *E. coli* المؤنثة Female ، فقط ، بفاج ت -٧ ، وعلى حين أن الخلايا المذكرة يمكن أن تصاب ، إلا أن عملية التكاثر تتوقف أثناء فترة الكمون.



الشكل رقم (٦٤). أ -فاج ت-٧ صورة بالمجهر الإلكتروني (عن آر سي ويليامز).
ب- رسم للفيروس.

والحامض النووي في مورث ت -٧ هو جزيء طولي من ح ن د مزدوج Linear d.s-DNA تحتوي على ٣٩,٩٣٦ زوجًا من القواعد. وقد تم عمل تتابع لكامل المورث ، وقد سمحت معلومات التتابع هذه بالتمييز بين تركيب الجينات وخواص التنظيم الجيني. ويقوم نحو ٩٢٪ من ح ن د لفاج ت -٧ بالتشفير لبروتينات. إذ قد تم توصيف ما لا يقل عن ٢٦ جينًا ، لكن ليست كل الجينات منفصلة التشفير على ح ن د. ويحدث التراكب Overlapping الجيني لعديد من الجينات من خلال الترجمة في إطارات قراءة مختلفة ومن خلال معاودة بدء Reinitiation لواحد أو أكثر من الجينات ، في نفس إطار القراءة ، ويتحقق مزيد من الاقتصاد الوراثي عن طريق التبديلات الداخلية للإطار خلال جينات معينة وذلك لإنتاج بروتينات أطول. ويوضح الشكل رقم (٦٥). الخريطة الوراثية لفاج ت -٧.



الشكل رقم (٦٥). الخريطة الوراثية لفاج ت -٧، تبين عدد الجينات، والأحجام التقريبية ووظائف منتجات كل جين يستخدم إنزيم ح ن ر بوليميريز العائل في النسخ من المحفزات المبكرة وإنزيم ح ن ر للفاج نفسه للنسخ من بقية المحفزات. الجينات مرقمة من أعلى لأسفل.

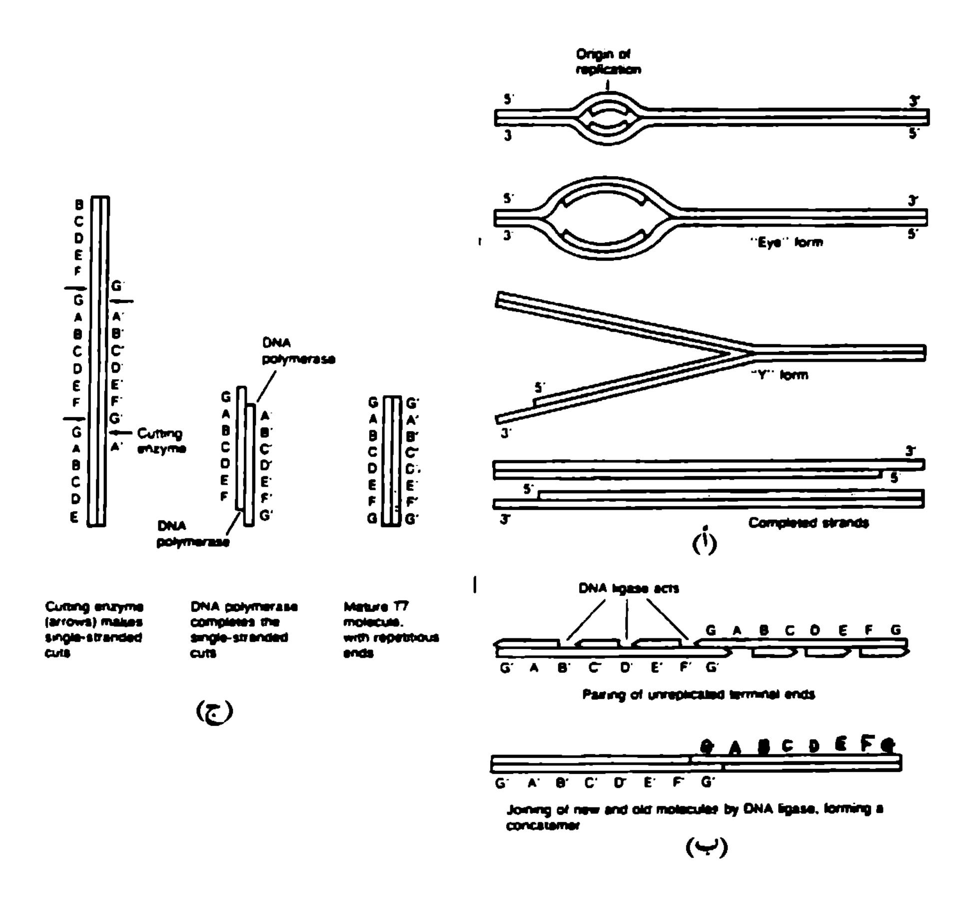
وعندما تتصل الدقيقة الفيروسية بالخلية البكتيرية، يحقن ح ن د في شكل طولي، حيث تدخل أولاً الجينات الموجودة على الطرف الأيسر من الخريطة الوراثية. وينسخ العديد من الجينات الموجودة على يسار ح ن د DNA مباشرة وذلك بوساطة إنزيم بلمرة ح ن ر الخلوي Cellular RNA polymerase، مستخدما في ذلك ثلاثة محفزات Promoters قريبة التجاور، مما يولد مجموعة من جزيئات ح ن ر عديدة التكوين Polycistronic

المتراكبة. بعدئذ، ينشطر ح ن ر الرسول هـذه عند ٥ مواضع بوساطة إنزيم محلل ح ن ر Rnase مـن الخلية، وبـذا، تتولـد أربعـة جزيئـات ح ن ر الرسـول تشـفر مـن ١ إلى ٤ بروتينات. وأحد هذه البروتينات هو إنزيم بلمرة ح ن ر RNA polymerase الذي يحدث تكاثرا لـ ح ن د. كما يشفر نوعان آخران من ح ن ر الرسول المبكر لبروتينات توقف عمل إنزيم بلمرة ح ن ر الخلوي، وبذا يقفل نسخ الجينات المبكرة وكذلك نسخ جينات العائل. بناء عليه، فإن إنزيم بلمرة ح ن ر الخلوي يقفل نسخ الجينات المبكرة، وكذلك نسخ جينات العائل. يستخدم إنزيم بلمرة ح ن ر للعائل، فقط، لنسخ الجينات القليلة الأولى ولكي يصنع ح ن ر رسول لإنزيم بلمرة ح ن ر النوعي للفاج. ويعد إنزيم بلمرة ح ن ر النوعي للفاج ناتجًا عن نسخ معظم ح ن ر التابع له. ويستخدم إنزيم بلمرة ح ن ر لفاج ت -٧ مجموعة جديدة من المحفزات موزعةعلى طول شمال المركز والأجزاء المركزية من المورث. من هنا، ينظر إلى أن تنظيم فاج ت -٧ يضم كلا من التحكم الموجب والسالب: ويعني **التحكم السالب Negative control** تكوين بروتينات من شأنها أن توقف إنزيم بلمرة ح ن ر للعائل، وبذا يقفل نسخ جينات ت -٧ المبكرة لفاج ت -٧ التي يمكن التعرف عليها بوساطة هذا الإنزيم. أما **التحكم الموجب Positive control**، فإنه يتم عن طريق تكوين إنزيم بلمرة ح ن ر جديد الذي يتعرف على محفزات الفاج ت -٧. كما يلاحظ، أيضًا، أن الفاج ت -٧ يعد مثالا لفيروس يؤثر بشدة على عمليات النسخ والترجمة الخاصة بالعائل، وذلك بإنتاجه بروتينات تقفل نسخ جينات العائل. ويضم الفيروس، أيضًا، جينات تشفر لإنزيمات تكسر ح ن د الخلوي، كما أن النيوكليوتيدات الناتجة عن هذا التكسير تدخل في تكوين خلفة الفيروس. ومن الواضح أن لمثل هذا الفيروس تأثيرات مرضية شديدة على خلية العائل. وكما يلاحظ من الخريطة الوراثية، فإن الجينات بعد جين ١٠١، والتي تنسخ بوساطة إنزيم بلمرة ح ن ر RNA لفاج ت -٧، تشفر لبروتينات مسئولة عن تصنيع ح ن د DNA الفاج، وتكوين الغطاء البروتيني الفيروسي وتجميع الفاج. وتتكون بروتينات الفاج من ثلاثة أقسام: قسم -١

وينتج خلال ٤ - ٨ دقائق من الإصابة ويستخدم فيه إنزيم بلمرة ح ن ر RNA، وينتج قسم -٢ خلال ٦ - ١٥ دقيقة بعد الإصابة ويقوم بتصنيعه إنزيم ح ن ر RNA الفاج وتدخل في أيض ح ن د DNA، ويصنع قسم -٣ بدءا من ٦ دقائق بعد الإصابة إلى أن يحدث التحلل. وتنسخ جيناته بوساطة إنزيم بلمرة ح ن ر RNA من الفاج ويشفر كذلك لبروتينات تجميع الفاج وغطائه.

ويبدأ تكاثر ح ن د DNA لفاج ت -٧ عند نقطة أصل التكاثر Origin of replication، كما هو موضح في الشكل رقم (٦٥). ويبدأ عند تلك النقطة تصنيع ح ن د DNA. ويتقدم تصنيع ح ن د DNA ثنائي الاتجاه Bidirectionally (الشكل رقم ٦٦). وفي كلا الاتجاهين، فإن بادئا من ح ن ر RNA primer (غير مبين بالشكل) يكون مسؤولا عن تخليق هذا البادىء في الاتجاه الأيسر والاتجاه الأيمن. ففي الاتجاه الأيمن Rightward direction، يخلق بادىء ح ن ر بوساطة إنزيم بلمرة ح ن ر من فاج ت -٧ T7 RNA primase، على حين أن الاتجاه الأيسر، وهو إنزيم نوعي للفيروس، يستخدم فيه إنزيم البدء من فاج ت -٧ T7 primase (وهو جين بروتين ٤). بعدئذ يستقبل البادئان بوساطة إنزيم بلمرة ح ن ر. ويمكن التعرف على جزيئات ح ن د فاج ت -٧ T7 DNA تحت المجهر الإلكتروني بتراكيبها المميزة. وبسبب أن أصل التكاثر قريب من النهاية اليسرى، فإن أشكال الجزيئات التي على شكل حرف واي Y-shaped يمكن أن ترى، كما تظهر مبكرا في الإصابة جزيئات على شكل فقاقيع Bubble-shaped.

ومن الخواص التركيبية في ح ن د فاج ت - ٧، والتي تكون ذات أهمية في تكاثر ح ن د DNA، وجود **التكرار الطرفي المباشر Direct terminal repeat** الذي يتكون من ١٦٠ زوجًا من القواعد عند طرفي الجزيء. ومن أجل أن يتكاثر ح ن د قرب الطرف ٥َ، فإنه يجب أن تزال جزيئات ح ن ر البادىء من قبل أن يكتمل التكاثر. وبذا، فإنه يتبقى جزء من ح ن د لفاج -٧ غير متكاثر عند الطرف ٥َ من كلا الخيطين



الشكل رقم (٦٦). تكاثر ح ن د DNA replication في فاج ت -٧. المورث ح ن د طولي مزدوج الخيـــط. (أ) تكاثر ح ن د فاج ت -٧ الطولي يكون ثنائي الاتجاه معطيا أشـــكال "العـين" و "Y" (ب) تكـوين مشبوكات Concatemers بوساطـة تربيط جزيئات ح ن د عند النهايات الطرفيـة غير المتكاثـرة مع ملاحظة أن إشارة الجينات عشوائيـة. (ج). إنتاج جزيئات ناضجـة مـن ح ن د الفيروسي من مشبوكات ت -٧ الطويل وذلك بفعل إنزيمات الحـامض النـووي داخلية القطـع Endonucleases. على اليسار، يصنع الإنزيم قطعا مفردة الخيط عند تتابعات نوعية (الأسهم). في المركز، يكمل إنزيم بلمرة ح ن د نهايـات الخيوط المفردة. على اليمـين جزيء ت -٧ مع نهايات تكرارية.

(الشكل رقم ٦٦-أ). ويمكن للطرف ٣َ لكلا الخيطين المفردين المتقابلين على كلا جزئي ح ن د المنفصلين أن يزدوجا عند الطرف ٥َ لأنهما مكملان لبعضهما، وبذا يتكون جزيء من ح ن د ضعف الطول الأصلي لـ ح ن د الأصلي في الفاج (الشكل رقم ٦٦ب). بعدئذ يقوم هذا الجزيء ثنائي التركيب طرفًا بطرف بالإكتمال من خلال عمل إنزيم بلمرة ح ن ر DNA polymerase وإنزيم لحام ح ن د DNA ligase. مما ينتج عنه تركيب طولي ثنائي الجزيء Linear bimolecule يسمى بالجزيء المربَّط Concatamer. ويمكن أن يؤدي التكاثر المستمر إلى تكوين جزيئات مربطة ذات طول كبير، لكن، في النهاية، يقطع إنزيم الجزيئات المربطة عند موقع معين، مما ينتج عنه تكوين جزيئات طولية في الحجم المطلوب للفيروس بما تحمله من أطراف تكرارية (الشكل رقم ٦٦- ج).

وبذا يتضح أن خطة تكاثر فاج ت -٧ أكثر تعقيدًا من بعض الفاجات الأخرى.

(٢,١,١,٢٨) فاجات البكتيريا ح ن د الكبيرة Large DNA phages:

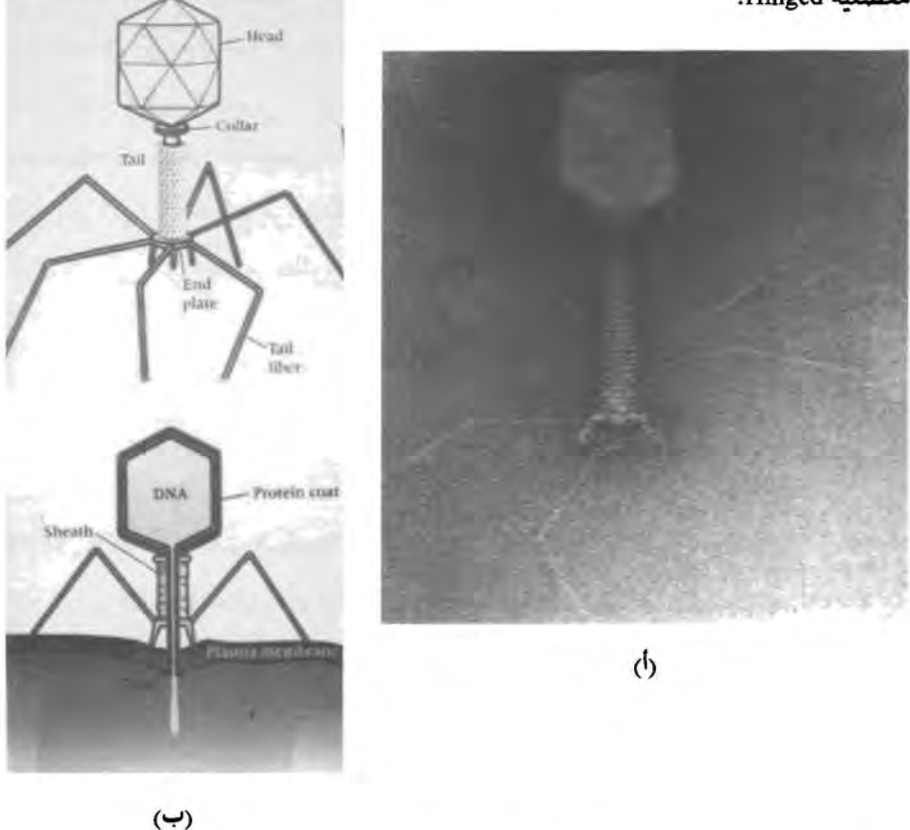
ويمثلها فاجات ت - الزوجية T - even التي تصيب البكتيريا القولونية *E. coli*، وهي أكثر فيروسات ح ن د التي درست بإستفاضة، وتضم الفاجات ت -٢، ت -٤ و ت -٦. وتعد هذه الفاجات من أكثر الفاجات تعقيدًا سواء على مستوى التركيب أو التكاثر. وسوف نتخير بالشرح فاج ت-٤.

فاج ت -٤ Phage T4:

١ - التركيب:

تعد الدقيقة الفيروسية لفاج ت -٤ معقدة، تركيبيًا، (الشكل رقم ٦٧). فهي تتكون من رأس متطاول نشأ من إضافة شريط أو اثنين من البروتينات السداسية، حيث تبلغ أبعاد الرأس، بشكل عام، ٨٥ × ١١٠ نانومترًا. ويتصل بهذه الرأس ذيل معقد

يتكون من أنبوبة حلزونية Helical tube (٢٥ × ١١٠ نانومترا). حيث يتصل بها غمد Sheath ورقبة توصيل Connecting neckcollar وشراشيب Whiskers وصفيحة قاعدية Basal plate يخرج من أركانها السداسية دبابيس Pins، يتصل بكل دبوس ليفة Fibre مفصلية Hinged.



(أ)

(ب)

الشكل رقم (٦٧). (أ) صورة بالمجهر الإلكتروني لفاج ت - ٤. (ب) رسم توضيحي.

ويتكون المورث (المجين Genome) من ح ن د مزدوج الخيط d.s-DNA يبلغ طوله نحو ٦٥٠ مرة قدر طول الرأس. وهذا يدل على أن ح ن د DNA يكون شديد الطي ومعلبًا بإحكام شديد داخل الرأس. وتركيب المورث طويل ووزنه الجزيئي ١٢٠×١٠^{٦}

دالتون، وهو مميز تماما عن ح ن د الخلوي حيث إنه يحتوي على قاعدة نيتروجينة فريدة هي ٥ - هيدروكسي ميثيل سايتوسين hydroxy methyl cytosine - 5 حيث تتحول مجموعات الهيدروكسيل على ٥ - هيدروكسي ميثيل سايتوسين عن طريق إضافة مجموعات جلوكوسايل Glucosyl residues، ويؤدي إضافة الجلوكوسايل إلى ح ن د DNA إلى مقاومة الأخير لكل الإنزيمات النووية الداخلية التحديدية Restiction endocleases الخاصة بالعائل. بناء عيه، فإن التحوير النوعي لـ ح ن د DNA الفيروسي يؤدي دورًا مهمًا في قدرة الفيروس على مهاجمة خلية العائل. وقد تم التعرف على أكثر من ١٦٠ جينًا منفصلاً. وتشفر هذه الجينات إلى بروتينات تركيبية ومجموعة متباينة من الإنزيمات وبروتينات أخرى تدخل في عملية التكاثر نفسها. كما يحتوي ح ن د DNA الفاج على مركبات قاعدية من عديدات الأمين مثل سبرميدين Spermidine وبيوتريسين Putrecine التي تعمل معادلات لمجموعات الفوسفات.

٢ - عملية الإصابة:

تستطيع ألياف الذيل بميلها الكيميائي أن تحدث اتصالا Attachment على مواقع من البروتين الدهني في الغشاء الخارجي للخلية البكتيرية تمثل مواقع الاستقبال Receptor sites. وبعد إحكام اتصال كل الألياف، تستقر الدبابيس الستة ويحدث هذا، بالتالي، تقبضًا في الذيل وإفراز الإنزيمات المحللة الهادمة Lysozymes التي تهضم الجدار الخلوي ومن ثم، تساعد الذيل المتقبض أن يدفع الأنبوبة المركزية التي تشبه إبرة المحقن، خلال الجدار الرقيق وتثقبه مارة إلى داخل الخلية. وتأتي الطاقة التي تسبب تقبض الغمد ودفع المثقب وقذف Ejaculation الحامض النووي داخل الخلية من وجود جزيئات من ATP في الفاج تعطي الطاقة اللازمة.

وعادة ما تمثل الخريطة الوراثية لفاج ت -٤ بدائرة على الرغم من أن ح ن د لفاج نفسه يكون طوليًا (الشكل رقم ٦٨). وتنشأ هذه الدائرية الوراثية بسبب أن الفاج يبدي ظاهرة تعرف بالتبديل الدائري Circular pennutation، حيث يوجد ذلك بسبب

وجـود تتابعـات قواعـد مختلفـة في مختلـف الدقـائق الفيروسـية ، ويحـدث الاختـلاف في الأطراف على الرغم من أن تتابع القواعد النيتروجينيـة يكـون هـو نفسـه عنـد نهايتي كـل جزيء. وينشأ هذا الوضـع نتيجـة لطريقـة تكـاثر ح ن د الفـاج ت -٤ ممـا ينتـج عنـه دائرية وراثية بالرغم من أن ح ن د نفسه طولي Linear.



الشكل رقم (٦٨). خريطة دائرية لمورث فاج ت -٤ تبين بعض الجينات ووظائفها. المناطق المظللة مـن الخريطة ضرورية في دورة حياة الفاج. وتبين الأسهم الداخلية أصـل نسـخ الجـين واتجاهه. وتميل جينات الوظائف ذات الصلة إلى التكتل معًا.

٣ - تصنيع ح ن ر الرسول وتنظيمه m RNA synthesis and regulation:

تعد تفاصيل التحكم في تكاثر فاج ت -٤ أكثر تعقيدًا من تلك الخاصة بفاج ت -٧، لكنـه يحتـوي، أساسًـا علـى تحكـم موجـب Positive control. إذ إن

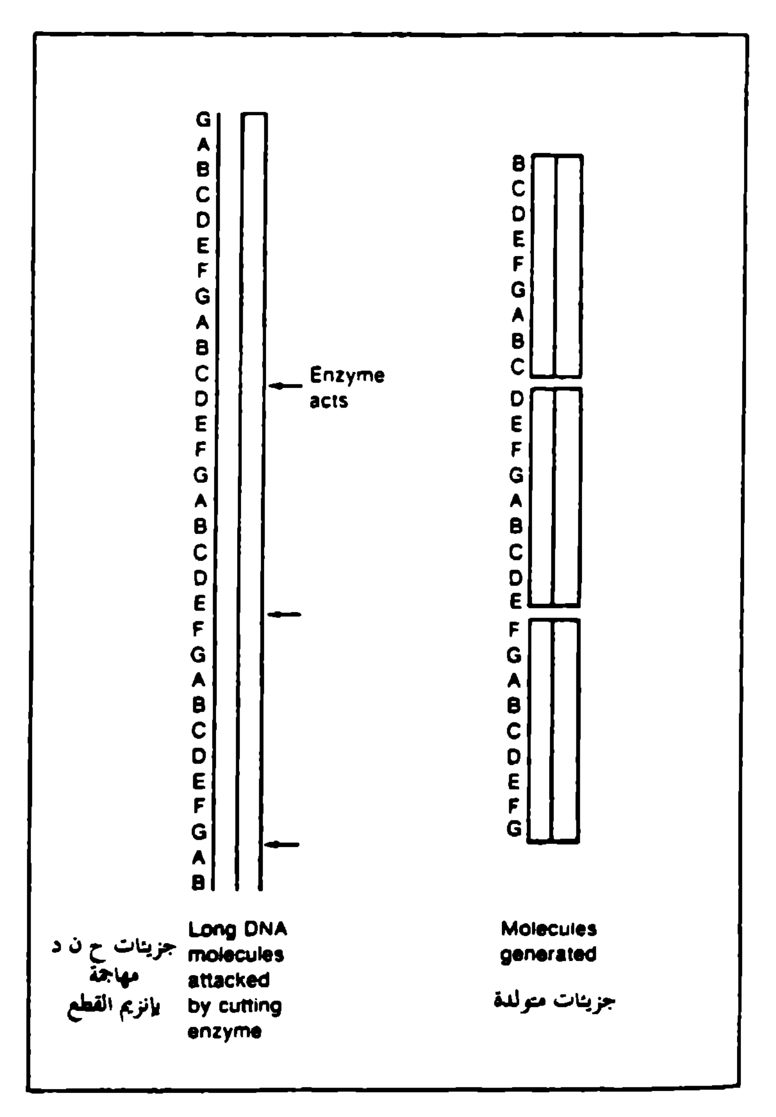
فاج ت -٤ أكبر بكثير من فاج ت -٧ ويمتلك جينات ووظائف أكثر. وعلاوة على ذلك، فإن ح ن د فاج ت -٤ يحتوي على القاعدة ٥ هيدروكسي ميثيل سايتوسين وإن بعض مجموعات الهيدروكسيل تكون مربوطة بالسكر Glycosylated. بناء عليه، فإن إنزيمات تمثيل هذه القاعدة الشاذة وإضافة السكر إليها يجب أن تتكون بعد الإصابة بالفاج، وكذلك، أيضًا.تكوين إنزيم يكسر مصدر ديوكسي ساتيدين ثلاثي الفوسفات الذي يوجد في ح ن د العادي.بالإضافة إلى ذلك، فإن فاج ت -٤ يشفر لعدد من الإنزيمات التي تشبه في وظائفها إنزيمات العائل التي يستخدمها في تكاثر ح ن دولكن بكميات أكبر. وفي كل الحالات، فإن فاج ت -٤ يشفر لما يزيد على ٢٠ من البروتينات الجديدة، التي تصنع مبكرا في الإصابة. كما يشفر، أيضًا، لتصنيع عديد من جزيئات ح ن ر الناقل tRNAs الجديدة، التي يفترض أن وظيفتها هي أن تقرأ بكفاءة أكثر ح ن ر الرسول لفاج ت -٤.

وعمومًا، فإنه يمكن تقسيم جينات الفاج ت -٤ إلى ثلاث مجموعات، للبروتينات المبكرة والوسطية والمتأخرة. وتعد **البروتينات المبكرة** إنزيمات مسئولة عن تكاثر ح ن د. كما يمكن، أيضًا، **للبروتينات الوسطية** أن تشارك في تكاثر ح ن د. مثال ذلك، بروتين تفكيك ح ن د DNA unwinding protein (إنزيم تفكيك ح ن د DNA gyrase) الذي يعمل على عدم ثبات حلزون ح ن د المزدوج، وبذا يتفكك في مناطق صغيرة مفردة الخيط، والتي عندها يبدأ تصنيع ح ن د. أما **البروتينات المتأخرة** فهي الإنزيمات اللازمة لتصنيع بروتينات الذيل والرأس والإنزيمات المسئولة عن تحرير دقائق الفاج الناضجة من الخلية. كما أنه لا يوجد أي دليل في ت -٤ على تكوين إنزيم بلمرة ح ن ر RNA نوعي للفاج مثلما هو في حالة فاج ت -٧. ويتضمن التحكم في تصنيع ح ن ر الرسول لفاج ت -٤ إنتاج بروتينات تقوم بتحوير تخصصية إنزيم بلمرة ح ن ر RNA الخاص بالعائل ومن ثم، يمكنه أن يتعرف على محفزات Promoters مختلفة للفاج. وتكون وظيفة المحفز المبكر الذي يوجد عند بداية

مورث ت -٤ ، هي القراءة المباشرة بوساطة إنزيم بلمرة ح ن ر للعائل، كما يشتمل، أيضا، على وظيفة العائل لما يسمى بعامل سيجما Sigma factor. ويتحرك إنزيم بلمرة ح ن ر للعائل على أسفل السلسلة حتى يصل إلى إشارة وقف Stop signal. وأحد البروتينات المبكرة هو الذي يقوم بإقفال مثل عامل سيجما للعائل. إذ يشبك البروتين المبكر مع محور إنزيم بلمرة ح ن ر RNA، وعندما يتراكم هذا البروتين، فإن البدء Initiation لجينات الفاج المبكرة يتوقف. عندئذ، تصبح محاور إنزيم بلمرة ح ن ر متاحة للارتباط مع منشطات Activators نوعية جدية للفاج. والتي تتحكم في نسخ الجينات المتأخرة. وبصفة عامة، فإن الجينات الوسطية تنسخ على طول نفس خيط ح ن د كما حدث في الجينات المبكرة، ولكن الجينات المتأخرة تنسخ على طول الشريط المقابل.

٤ - تكاثر ح ن د DNA replication:

تتماثل عملية تكاثر ح ن د لفاج ت-٤ مع الخاصة بالفاج ت -٧، ولكن إنزيم القطع Cutting enzyme الذي يكون قطعًا في حجم الفيروس لا يتعرف على مواضع نوعية على طول الجزيء، ولكنه، بدلاً من ذلك، يقطع عبوات Packages من ح ن د تكفي لملء الرأس بغض النظر عن التتابعات (الشكل رقم ٦٩). يتميز توليد جزيئات ح ن د DNA generation لفاج ت -٤ في الحجم الفيروسي بتتابعات متغيرة Permuted بوساطة إنزيم القطع الذي يقطع أطوالاً واحدة من ح ن د بغض النظر عن التتابع. تشير الأسهم في الرسم الأيمن لموقع مهاجمة الإنزيم، في الرسم الأيسر الجزيئات المتولدة. وبذا، فإن كل جزيء من ح ن د للفيروس يحتوي على نهايات تكرارية Repetitious ends. ولكن تتابع النيوكليوتيدات عند نهايات الجزيئات المختلفة تكون مختلفة بالرغم من أن كل جزيء يحتوي على تتابع كامل للجينات الفيروسية. وكما هو مبين، فإنه ينتج عن عملية القطع تكوين جزيئات ح ن د ذات تتابعات متغيرة عند النهايات الطرفية.



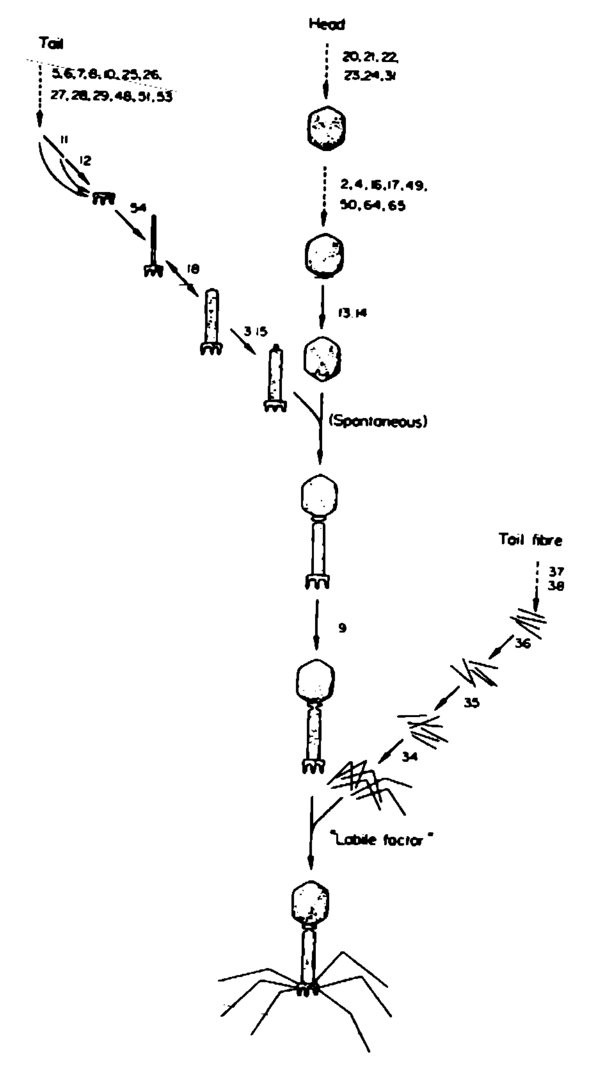
الشكل رقم (٦٩). توليد Generation جزيئات فاج ت٤ على طول جزيئات ح ن د الفيروسية ذات تتابعات متغيرة Permuted بوساطة قطعها بالإنزيم، وتكون القطع Cuts ثابتة الطول بغض النظر عن التابع. الشكل الأيسر يبين مواقع مهاجمة الإنزيم. والشكل الأيمن يبين الجزيئات المتولدة.

(٢٨,١,٢) فاجات البكتيريا المعتدلة Temperate Phages.
(غير الشرسة Avirulent)

(٢٨,١,٢,١) ظاهرة تولد التحلل Lysogeny

كما سبق القول، فإن الفيروسات التي شرحت للتو تسمى الفيروسات الشرسة Vrulent viruses، حيث إنها عادة ما تقتل الخلايا التي تصيبها. ومع ذلك، فإن العديد من الفيروسات الأخرى، والتي يمكنها أحيانا أن تقتل، تكون، غالبًا، ذات تأثيرات رقيقة على الخلايا. ويطلق على هذه الفيروسات مصطلح غير شرسة Airulent، إذ يمكن لمادتها الوراثية أن تلتحم في مورث (مجين Genome) الخلية العائلة وبذا تتضاعف كلما تضاعفت المادة الوراثية للخلية أثناء الإنقسام الخلوي. وبذا تمر من جيل إلى آخر للبكتيريا. وتحت ظروف معينة، فإن هذه البكتيريا يمكنها أن تنتج فيريونات من نوع الفيروس الهادىء Temperate virus، والذي يمكن الكشف عنه بقدرته على إصابة سلالة بكتيرية أخرى وثيقة الصلة. ويبدو على مثل هذه البكتيريا كما لو أنها سليمة وغير مصابة، ولكنها ذات قدرة وراثية على إنتاج الفاج لذا، فإنها تسمى، **مولدة التحلل** Lysogenic.

وبالنسبة لأغلب الفاجات المعتدلة، فإن العائل إذا صنع، ببساطة، نسخة واحدة من ح ن د الفيروسي، فإن التحلل لا يحدث، عادة، ولكن إذا أنتجت دقائق فيريونية كاملة، فإن الخلية العائلة عندئذ تتحلل، وإن أي مزرعة بكتيرية مولدة التحلل عند وقت ما ينتج جزء صغير منها (١, إلى ٠,٠٠٠١٪) فيروسًا وتتحلل، على حين أن أغلب الخلايا لا تنتج فيروسًا ولاتتحلل. وعلى الرغم من أن الخلايا مولدة التحلل نادرًا جدًا ما تنتج فيروسات في الواقع، إلا أن كل خلية لها المقدرة على ذلك. بناء عليه، يمكن إعتبار أن حالة **تولد التحلل** Lysogeny إن هي إلا صفة وراثية لسلالة بكتيرية. ويبين الشكل رقم (٧٠) دورة حياة فاج البكتيريا المعتدل. ولا يوجد الفاج المعتدل داخل الخلية في صورته الناضجة المعدية، ولكن في شكل كامن Latent form يسمى **حالة الفيروس أو الفاج الأولي** Provirus or prophage.



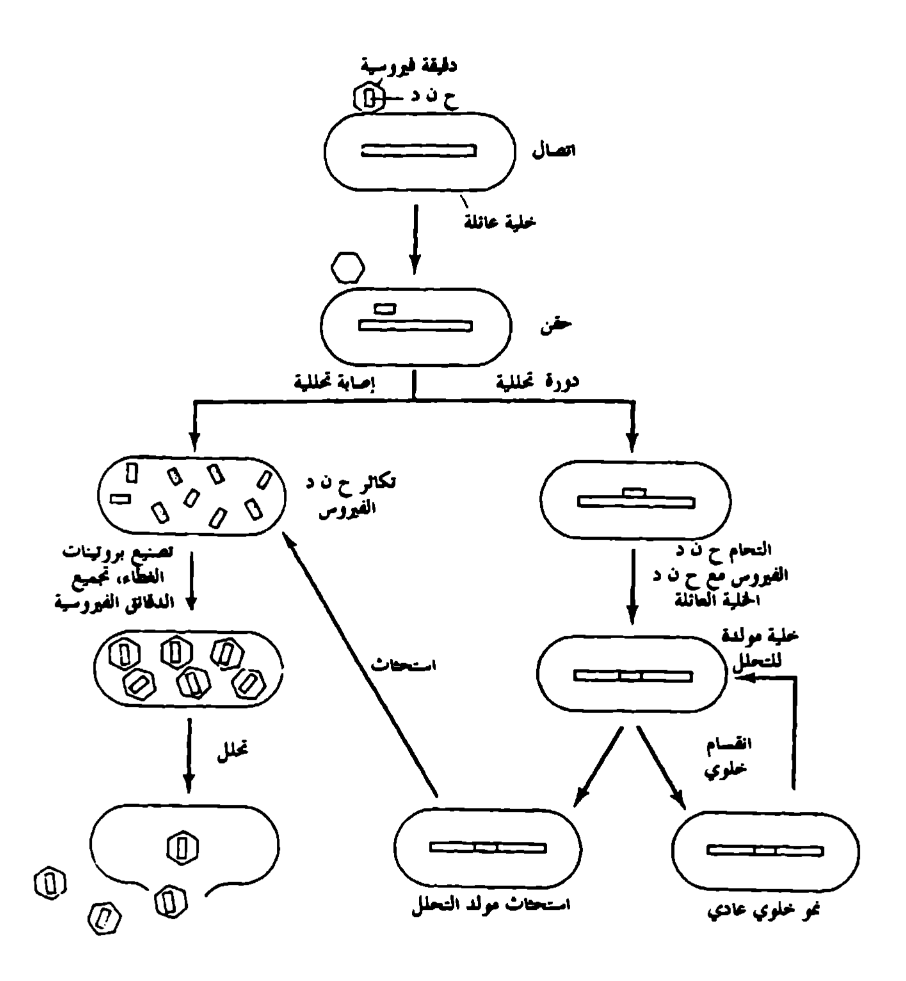
الشكل رقم (٧٠). خطـوات تجميع فاج ت –٤. تخرج الفيريونات الكاملة من الخلية نتيجة لتحلل الخلية. ومـن أجل هذا، يقوم الفاج بالتشفير لإنزيم تحللي هو الإنزيم المحلل الهادم Lysozyme الخـاص بفاج ت –٤، الـذي يهاجم الببتدوجليكان في جدار الخلية العائلة. ويعتمد حجم الانفجار Burst size (وهو متوسط عدد الدقـائق الفيروسية التي تكونت داخل كل خلية) على الكيفية التي يتم بها التحلل بسرعة، فإذا حدث التحلل مبكـرا، فإن حجم الانفجار يكون قليلاً، على حين يؤدي التحلل البطيء إلى انفجار كبير. ولفاج البري (أصلي) خاصية تسـمى تثبيط التحلل Lysis inhibition. ولذا، يكون له حجم انفجار كبير، أما طفرات التحلـل السـريع Rapid lysis mutants، والتي يحدث فيها التحلل مبكرًا، فإنها تظهر حم انفجار أصغر.

لقد سبق وعرفنا أن ح ن د للفيروس الشرس يحتوي على معلومات لبناء عدد من الإنزيمات والبروتينات الضرورية لإنتاج الفيروس. أما الفاج الأولي للفيروس المعتدل فإنه يحمل، أيضًا، نفس المعلومات، لكن تبقى هذه المعلومات في الخلية مولدة التحلل ساكنة لأن التعبير عن الجينات الفيروسية يكون مقفولا من خلال كابح نوعي Specific repressor مشفر له بوساطة الفيروس. ونتيجة **التشغيل الوراثي Genetic switch**، ينشط الكابح ويحدث إنتاجا للفيروس وتتحلل الخلايا وتتحرر الدقائق الفيروسية.

ويمكن أن تعامل المزرعة مولدة التحلل بحيث تؤدي هذه المعاملة إلى تحلل أغلب الخلايا إن لم يكن كلها مع إنتاج الفيروسات. وتسمى هذه المعاملة الاستحثاث Induction، وتتضمن، عادة، المعاملة بالأشعة فوق البنفسجية uv، أو بغاز الخردل Mustard gas، أو بالأشعة السينية وهي كلها تسبب عطبًا في ح ن د DNA. ومع هذا، فليست كل الفاجات الأولية قابلة للاستحثاث، إذ إن بعض الفيروسات المعتدلة، يحدث التعبير فيها عن الفاج الأولي تحت الظروف الطبيعية، فقط.

وعلى الرغم من أن البكتيريا مولدة التحلل قد يكون لديها قابلية للإصابة بفيروسات أخرى، إلا أنها لا يمكن أن تصاب بدقائق من الفيروس الذي جعلها في حالة تولد التحلل. ومن ثم، فإن هذه **المناعة Immunity**، وكما سبق ذكرها، تعد خاصية للخلايا مولدة التحلل، وتكتسب عن طريق آلية الكبح الداخل خلوي تحت تحكم جينات الفيروس.

ومن الممكن، في بعض الأحيان، أن يستبعد الفيروس مولد التحلل (شفاء "cure" السلالة) عن طريق التشعيع الكثيف Heavy irradiation أو المعاملة بغازات الخردل النيتروجينة. إذ من بين الخلايا التي تبقى حية قد توجد خلايا شفيت من الفاج. ويفترض أن هذه المعاملة تسبب انفصال الفاج الأولي من كروموسوم العائل ومن ثم، يفقد خلال النمو الخلوي اللاحق. ولكن هذه السلالة التي شفيت لم تعد بعد منيعة ضد نفس الفيروس، ويمكن أن تعمل عائلاً مناسبًا لدراسة تكاثر هذا الفيروس الشكل رقم (٧٠).



الشكل رقم (٧١). إحداث الإصابة بالفاج المعتدل. يحدث خياراً بعد الإصابة بين تكامل ح ن د للفيروس مع ح ن د للعائل (أي تولد التحلل) أو أن يتكاثر ويتحرر الفيروس الكامل (تحلـــل). كما يمكن أن تستحث الخلية مولدة التحلل لإنتاج فيروسات كاملة ومن ثم، تحللاً.

كيف، إذن، يمكن أن نحدد ما إذا كانت السلالة البكتيرية مولدة للتحلل أم لا؟ يلزم لذلك عائل حساس Sensitive host ، وهو، عادة سلالة وثيقة القرابة بالسلالة مولدة التحلل، ولكنها ليست مصابة بالفاج الأولي. وعمليًا، فإنه يمكن الحصول على

سلالات كثيرة من السلالات وثيقة القرابة. إما مـن الطبيعـة وإمـا مـن مجموعـات تجميـع المزارع Culture collections. ويلاحظ أنه، عند إستخدام الإشعاع لاستحثاث البكتيريا مولدة التحلل، فإن عيارية دقـائق الفـاج الناتجـة عـن هـذه المزرعـة تكـون ١٠^{٦} - ١٠^{٨} دقيقة فيروسية / مل. ويؤدي التشعيع إلى استحثاث الفاج لهذا التكاثر. وبعد مزيد من التحصين، ترشح المزرعة ترشيحًا عاليًا Ultrafiltered لـتزيل البكتيريا الحية، ويختبر الراشح Filtrate ضـد مختلف السلالات تحت الدراسة، وذلك باستخدام تقنية الآجار المغطى Agar overlay technique الـتي تستخدم لمعايرة Assaying الفيروسـات وصفيًـا وكميًا. فإذا ظهرت روائق Plaques، فإنه يمكن افتراض وجـود الدقـائق الفيروسـية الـتي هي سلالة مولدة للتحلـل Lysogenic strain. وفي بعـض الأحيـان، يتحتم اختبـار عـدد ضخم من السلالات من أجل التوصل إلى سـلالة حساسـة Sensitive strain. إن معظم البكتيريا المعزولة من الطبيعة تكون مولدة للتحلل لواحد أو لأكثر من الفيروسات.

(٢٨,١,٢,٢) عواقب الإصابة بالفيروسات المعتدلة

Consequences of temperate virus replication

ماذا يحدث عندما يصيب فيروس معتدل كائنًا غير مولد للتحلل؟

قـد يحقـن الفـيروس ح ن د لمادتـه الوراثيـة ويبـدأفي دورة تكاثريـة مشـابهة للـتي تحدث في الفيروسات الشرسة، حيث تتحلل الخلية المصابة ويتحرر منها مزيد من الدقـائق الفيروسية. أو بديلا لذلك، يحدث عند حقن ح ن د DNA الخاص بالفاج داخـل الخليـة، تولـد التحلـل Lysogenizition، أي يصبـح ح ن د DNA الفـيروسي ملتحمًـا مـع المـادة الوراثية للخلية، أو جزءا منها، وبذا تتحـول الخلية البكتيرية إلى بكتيريا مولـدة للتحلـل. Lysogenic ومن ثم، تصبح الخلية البكتيرية المصابـة متغيرة وراثيًا Genetically changed نتيجةً لعملية تولد التحلل. وتستطيع الخلايا الحساسة للفـاج المعتـدل أن تدخـل في التحلـل أو في تولد التحلل. إن حـدوث أي مـن هـاتين الحـالتين إنمـا يتحـدد نتيجـة فعـل نظام كبـح معقد Repression system، وبذا فإننا نرى الفاج المعتدل لـه المقـدرة على الوجـود المزدوج

dual existence ، فهو تحت مجموعة معينة من الظروف ، يكون وحدة فيروسية مستقلة قادرًا على عمل تكاثره الخاص به ، ولكن عندما يلتحم ح ن د DNA الخاص به مع المادة الوراثية للخلية ، يكون تكاثر الفيروس ، عندئذ ، تحت تحكم الخلية العائلة.

(٣,٢,١,٢٨) فاج لامدا (λ) Lambda phage:

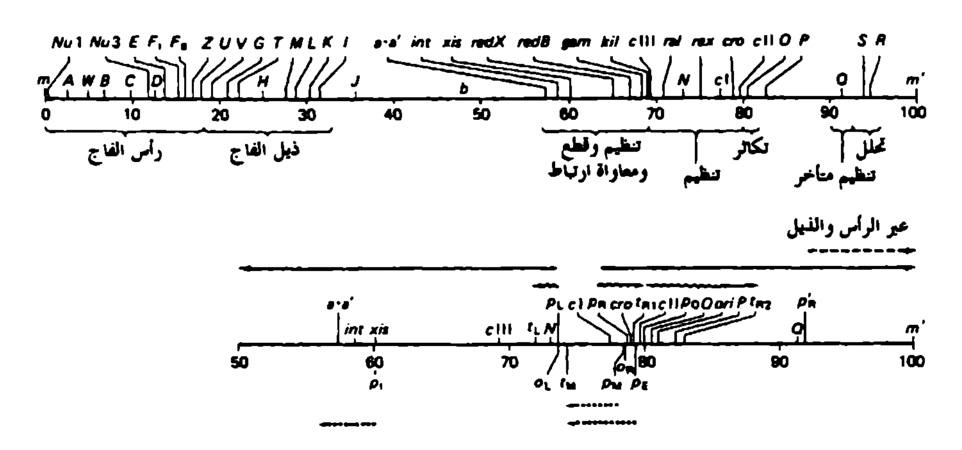
يعد الفاج لامدا (λ) النوع الممثل Prototype للفاجات المعتدلة أو مولدة التحلل ويتبع العائلة الخيطية Styloviridae. وهو من أكثر الفيروسات التي درست تفصيلا واتساعا. ويتكون الفيريون من رأس قطره ٥٥ نانومترًا ومن ذيل رفيع غير متقبض أبعاده ١٥×١٣٥ نانومترًا وينتهي بليفة واحدة رفيعة (الشكل رقم٧٢). ويتكون ح ن د المزدوج d.s - DNA لفاج (λ) من نحو ٤٧,٠٠٠ زوج من القواعد النيتروجينية ، ووزنه الجزيئي ٣٢ × ١٠[٦] دالتون ، وهو جزيء طولي ينتهي بنهايتي لاصقتين Cohesive ends ، إذ توجد ١٢ نيوكليوتيدة على طرفيه مكملة لبعضها بعضا ومن ثم ، فإن ح ن د يتحلق Circularizes بهاتين النهايتين اللاصقتين حال حقنه داخل الخلية المصابة :



الشكل رقم (٧٢) صورة بالمجهر الإلكتروني لفاج لامدا.

3´ CCCGGCGCTGGA 5´ ← وفي ح ن د الطولي Linear DNA ، تقع جينات بروتينات الرأس ، أو التي تشارك في تجميعها في الـ ١٨٪ الأولى على طوله ، على حين

تقع الجينات المرتبطة بوظائف الذيل في الـ ١٨٪ التالية. أما الـ ٥٠٪ التالية، فإنها تعد مسئولة عن وظائف تولد التحلل وتنظيمها ثم تعقبها جينات مسئولة عن تكاثر ح ن د وعن تحلل الخلية (الشكل رقم ٧٣ أ و ب).

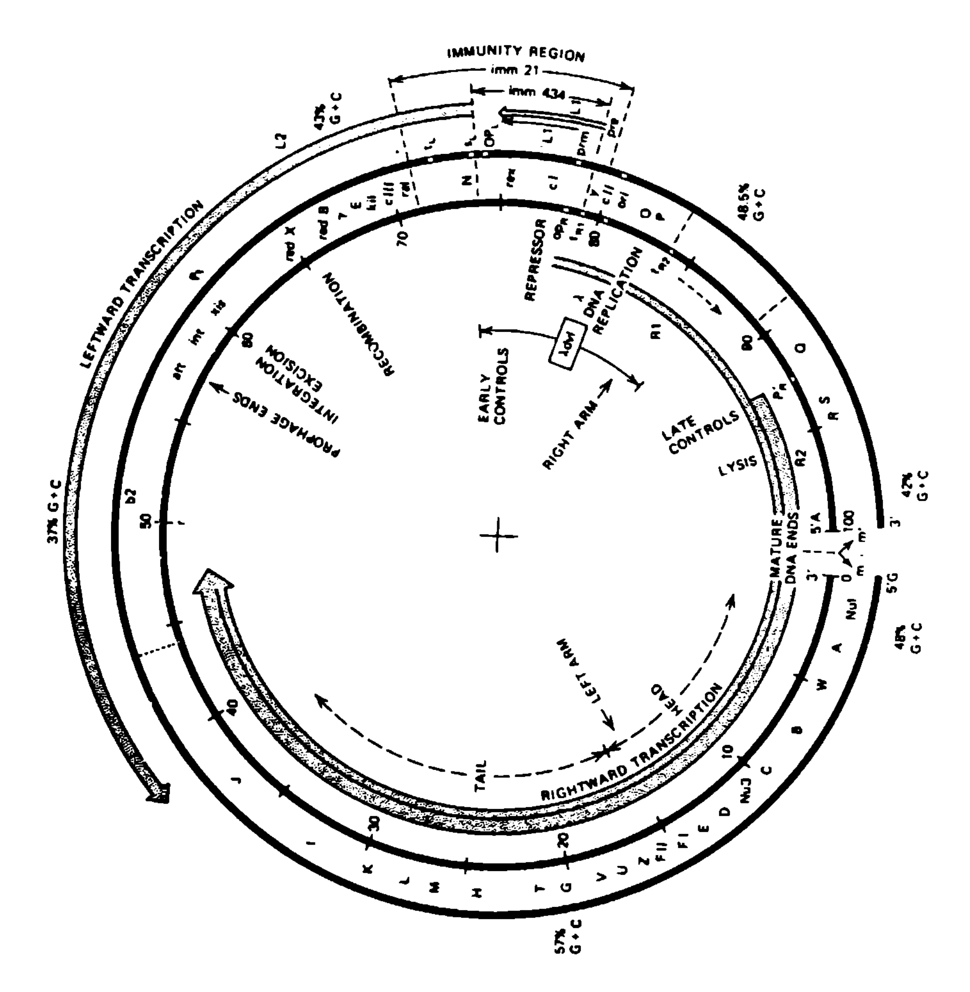


الشكل رقم (٧٣ أ). الخريطة الوراثية لفاج لامدا (λ) ونظام النسخ المبكر له. موضح الجينات التي تشفر لبروتينات ذات وظائف محددة في الجزء العلوي من الشكل، على حين تحدد الخطوط العمودية مركز الجينات. وتعد المنطقة ساكنة فيما يتعلق بالوظائف الفيروسية المحددة، وعلى الرغم من أنها قد تشفر العديد من البروتينات. أما المواقع التنظيمية ووظيفتها فهي مبينة في الجزء السفلي من الشكل. وموضح الأطوار المختلفة لنشاط النسخ ومنطقة ح ن د المسئولة عن ذلك كما هو مبين بالأسهم. ولكن تحديد الطول الفعلي لـ ح ن د المنسوخ عن طريق قطع خطوط المحفز Promoter، والمنهي Terminator مع الخط المقنن الأفقي الذي مثل مورث لامدا.

(عن فرينكل – كونرات وآخرين ١٩٨٨م).

١ – هل يحدث فاج لامدا التحلل أم تولد التحلل Lysis or lysogenization:

إذا حدث التحلل، فهذا يعني أن جينات الفاج تبقى ثابتة في حالة تولد التحلل حتى يحدث التحول Switch وتتبدل، بعدئذ، بكفاءة عالية إلى الحالة الثانية التي يحدث فيها نمو تحللي. وتسمى هذه الحالة **إستحثاث تولد التحلل Lysogenic induction**. ولكن كيف يحدث التحول الوراثي من تولد التحلل إلى التحلل؟



الشكل رقم (٧٣ب). الخريطة الوراثية لفاج لامدا. تبين خيطا ح ن د المكملان بالأطراف ٣َ ، ٥َ. ويرمز للجينات بحروف مثل att حيث تعني موضع اتصال الفاج بكروموسوم العائل. وينسخ خيط ح ن د رقم ١ لجهة اليسار (عكس عقارب الساعة) حيث يكون طرفه ٥َ المنتهي بجوانين G عند طرفه الأيسر للنهاية اللاصقة (m)، ومبين مشغلان operons هما: L2, L1 كما أن R2, R1 مشغلان أيضًا. والجينات الموجودة يرمز لها كما يلي: cI = بروتين الكابح، OR = مشغل لأوبيرون النسخ الأيمن Ol وR1 = مشغل لأوبيرون النسخ الأيسر L2 و كرون cro = جين لكابح ثان والذي يكبح L1, L2 و R1 . تشمل منطة المناعة cI و cro، OR و Ol. يضاد التنظيم الموجب الإنهاء المعتمد على عامل رو rho.

يملك فاج لامدا مجموعتان مـن الجينـات، واحـدة تتحكـم في نمـو التحلـل والأخرى تتحكم في نمو تولد التحلل. فعند حدوث الإصابة يعبر عـن كـل من الجينات المحفزة للنمو التحللي والجينات المحفزة للالتحام مولد التحلل. لكن أي مـن هذيـن المسارين ينجح، فإن هـذا يحدده الفعل التنافسي للمنتجات الخاصة بالجينات المبكرة وبتأثير عوامل الخلية العائلة.

ولفهم كيف يعمل ذلك، فإننا نحتاج لدراسة الخريطة الوراثية الموجودة بالشكل ٧٣ - ب. بالرغم من أن شكل الخريطة الوراثية كما هو في الواقع (الشكل رقم ٧٣ أ) يكون طوليًا، لكننا يمكن أن نبينها بهذا التوجيه الدائري (وذلك لأنه يحدث تدوير بوسط الأطراف اللاصقة). وتتكون خريطة فاج لامدا من العديد من المشغلات (الأوبيرونات) Operons (منظمات التشغيل)، كل منها ينظم مجموعة من الوظائف المرتبطة ببعضها. وتنسخ بعض جينات الفاج بوساطة إنزيم بلمرة ح ن ر على خيط واحد من الحلزون المزدوج، وتنسخ الأخرى من على الخيط الثاني. وعند حقن المادة الوراثية، يحدث نسخ لجينات الفاج التي تشفر لكابح Repressor لامدا، مما يسبب قفلا للتكاثر التحللي. ويقفل بروتين الكابح نسخ كل جينات لامدا المتأخرة، ومن ثم يمنع التعبير عن الجينات المسئولة عن الدورة التحللية.

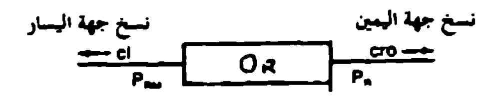
وفي الخلية مولدة التحلل، يتم التعبير عن جين واحد للفاج باستمرار، ذلك هو الجين الذي يشفر لبروتين كابح Repressor protein لامدا. ويرتبط بروتين الكابح هذا، الذي يشفر له بجين يسمى CI، باثنين من المشغلين Operators على ح ن د لامدا ومن ثم يقفل "Turns off" نسخ كل الجينات الأخرى لمورث لامدا. وهذا ما يعرف بوظيفة التحكم السالب Negative control لكابح لامدا. علاوة على ذلك، فإن كابح لامدا يشغل "Turns on" تصنيع نفسه. وهذه هي وظيفة التحكم الموجب Positive control لكابح لامدا. بناء عليه، ونتيجة لتحفيز تصنيع نفسه، فإن كابح لامدا يضمن عدم تصنيع الجينات الأخرى غير الجين الذي يشفر له. وفي الخلية مولدة التحلل، سوف توجد نسخ واحدة، فقط، من مورث لامدا، على حين يوجد نحو ١٠٠ جزيء

نشط من بروتين الكابح. ومن ثم، يوجد، دائمًا وباستمرار، مزيد من الكابح ليرتبط بـ ح ن د لامدا وبذا يمنع نسخ الجينات اللازمة لنمو لامدا وإنتاجه.

٢ - الإصابة التحللية لفاج لامدا Lytic growth of phage lambda:

إذا حدثت إصابة من فاج لامدا وأدت إلى تكاثره وتحلل الخلية المصابة وموتها مع إنتاج فيريونات لامدا. فما الذي يؤدي إلى أن فيروس لامدا يحدث تكاثرًا في الخلية المصابة؟ الذي يحدث في الخلية مولدة التحلل أنه يمكن أن يسمح لفاج لامدا بالتكاثر، فقط، بعد أن يتم تثبيط الكابح. وكما هو معلوم، فإن العوامل التي تستحث الخلايا مولدة التحلل على إنتاج الفاج، هي نفس العوامل التي تحدث عطبًا في ح ن د، مثل الأشعة فوق البنفسجية والأشعة السينية أو الكيميائيات المتلفة لـ ح ن د مثل غازات خردل النيتروجين. وعندما يعطب ح ن د تظهر آلية دفاعية من الخلية العائلة تسمى استجابة "سوس" "SOS" (وهو نظام متعدد الوظائف لإصلاح ح ن د DNA). ويتم ذلك عن طريق تشغيل إنتاج نحو ١٠ - ٢٠ جينًا بكتيريًا، بعضها يعمل على مساعدة الخلية في البقاء في مواجهة عطب الإشعاع. ومع هذا، فإن أحد نتائج عطب ح ن د هو تحول بروتين بكتيري يعرف باسم "رك أ" Rec A (عادة، يكون مسئولا عن معاودة الارتباط Recombination) إلى نوع خاص من الإنزيم محلل البروتين "بروتييز" Protease والذي يشارك، بدوره، في تدمير كابح لامدا. وبمجرد أن يتم تدمير كابح لامدا، فإن تثبيط التعبير عن جينات لامدا التحللية يلغى. ومن الجدير بالذكر أن النشاط التحليلي للبروتين بوساطة "رك أ"، يسبب عطب ح ن د الذي يؤدي دورًا مهمًا في استجابة الخلية ضد عوامل عطب ح ن د، وذلك عن طريق المشاركة في تكسير بروتين العائل المسمى "لكس أ" Lex A الذي يكبح مجموعة من جينات العائل المسئولة عن إصلاح ح ن د. لذا، فإن استحثاث فاج البكتيريا لامدا إنما يكون عاقبة غير مباشرة لاستجابة "سوس".

وبمجرد أن يثبط كابح لامدا، يتلاشى كل من التحكم الموجب والسالب الذي يظهرهما الكابح، ومن ثم تبدأ أحداث نسخ جديدة. وأهم أحداث النسخ التي تتم تتضمن تصنيع بروتين لامدا جديد يسمى كرو Cro، والذي يشفر له بوساطة جين "كرو". ويقع جين "كرو" مجاورًا للجين CI الذي يشفر لكابح لامدا (الشكل رقم ٧٤).



الشكل (رقم ٧٤). يبين موقع محفزين في ظهر بعضهما (محفز يميني ومحفز يساري) في منطقة "كـرو" و CI حيث يتحكمان في التحويل الوراثي. فعندما يكون CI موجودا، فإنه ينشط تخليق نفسه ويقفل نسخ cro. وعندما يثبط CI، فإن نسخ cro يحدث، مسببا دورة تحللية ولتصل بروتين CI (الكابح) ويرتبط مع المشغل (انظر الشكل رقم ٧٤ ب).

ويتوقف التحويل الوراثي Genetic switch على تقارب الجينات التنظيمية لبروتين الكابح ولبروتين كرو. وينسخ الجينان في اتجاهين معاكسين، مبتدئين عند نقطتي بدء مختلفتين. ويوجد في المنطقة التي تفصل هذين الجينين نوعان من المواقع، موقع للمحفزات Promoters وموقع للمشغِّلات Operators واللذين يرتبط باي منهما بروتين التحويل Switch protein. فعندما يرتبط كابح لامدا بمشغله، فإنه يغطي محفز كرو Cro. أما عندما يرتبط مع كرو، فإنه يغطي على واحد من محفزات سي-١ CI. ويعتمد اتجاه نسخ ح ن د لـ ح ن د المزدوج الخيط على المحفز. إذ إن المحفز يعطي توجيها لإنزيم بلمرة ح ن ر RNA في الاتجاه المضبوط. وفي حالة لامدا، فإن محفز سي -١ (CI) يوجه إنزيم بلمرة ح ن ر جهة اليسار، على حين أن محفز كرو (Cro) يوجه إنزيم البلمرة إلى جهة اليمين.

ويوفر نظام لامدا أحسن ما درس عن أمثلة التحويل الوراثي، والتي يعمل فيه واحدة أو أخرى من الوظيفتين الوراثيتين المتنافستين. وسوف يعتمد الحصول على اليد

العليا لأي الوظيفتين على من الذي يفوز بفرصة البدء، فما إن تترسخ إحدى الوظيفتين حتى تمنع عمل الوظيفة الأخرى ويمكن تخطي الوظيفة الوراثية السائدة، فقط، تحت الظروف غير العادية، كحدوث الاستحثاث Induction.

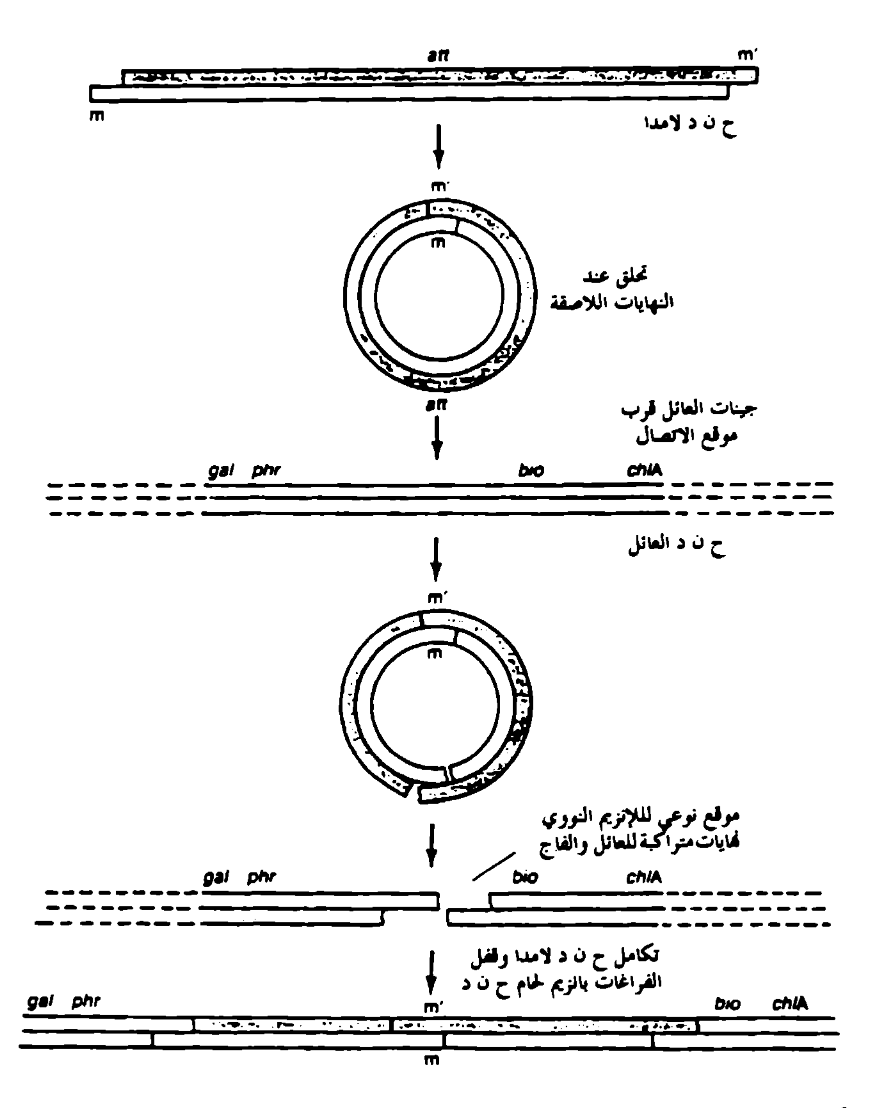
٣ - التكامل (الالتحام) Integration:

يحدث تكامل ح ن د لامدا في كروموسوم العائل عند موقع فريد من مورث *E. coli* ويحدث التكامل عن طريق غرز Insertion ح ن د الفيروسي في مورث العائل (وبذا يزداد طول مورث العائل بعد التحام مورث الفيروس). ويوضح ذلك الشكل رقم (٧٥)، إذ تتقابل الأطراف اللاصقة لكروموسوم لامدا الطولي، عقب حقن ح ن د للفاج داخل الخلية العائلة، معًا وتكون دائرة كما أن هذا هو الحامض ح ن د الدائري الذي يلتحم مع مورث العائل من أجل تأسيس تولد التحلل؛ إذ لا بد من التعبير عن جينات سي -١ (CI) والالتحام (إنت) int. وكما سبق ذكره، فإن منتج جين سي -١ هو بروتين يكبح النسخ المبكر وبذا، فإنه يقفل نسخ كل الجينات المتأخرة. وتتطلب عملية الالتحام منتج جين الالتحام (إنت int) والذي هو إنزيم اللحام الموضعي Topoisomerase الذي يساعد على معاودة ارتباط Recombination بين موقعي الإتصال لكل من الفاج والخلية العائلة.

وأثناء نمو الخلية، يمنع نظام الكبح للامدا التعبير عن جينات لامدا الملتحمة فيما عدا جين سي -١ (CI) الذي يشفر لكابح لامدا، ويتكاثر ح ن د لامدا الملتحم مع بقية مورث العائل أثناء تكاثر ح ن د للعائل، كما ينتقل كذلك إلى الخلايا الخِلْفة. وعندما يحدث تحرر من الكبح فإن الدورة التحللية للفاج يتم حدوثها.

٤ - التكاثر Replication:

يحدث تكاثر فاج لامدا في نمطين متميزين أثناء أجزاء مختلفة من دورة إنتاج الفاج، فبادىء ذي بدء، ينتج عن تحرر ح ن د لامدا من إلتحامه بنظيره لخلية العائل



الشكل (رقم ٧٥). تكامل ح ن د لامدا مع ح ن د للعائل الذي يحدث باستمرار عند موضع الاتصال للفاج att.

تكاثر ح ن د الدائري ، لكن سريعًا ما تتكون أشكال طولية تتكاثر بطريقة مختلفة. ويبدأ التكاثر عند موقع قريب من جين (أ)و(O) ثم من هنا ينطلق متقدما في إتجاهين

متعاكسين (تكاثر متماثل ثنائي الاتجاه)، وينتهي عندما تتقابل شوكتا التكاثر. وفي الطور الثاني، عندما يحدث توالي للأشكال الطولية من مورث لامدا يحدث التكاثر بطريقة غير متماثلة Asymmetric عن طريق **تكاثر الحلقة الدوارة Rolling circle replication**. وفي هذه الآلية، يتقدم التكاثر في اتجاه واحد، فقط، مما قد ينتج عنه سلاسل طويلة جدًا من ح ن د المتكاثر. وتعد هذه الآلية ذات كفاءة في السماح بالتكاثر الشديد السريع غير المحكوم، وبذا، فإنه يكون ذا قيمة في الأطوار المتأخرة من دورة تكاثر الفاج عندما يكون مطلوبًا كميات كبيرة من ح ن د اللازم لتكوين فيريونات ناضجة. إن الأشكال الطويلة المتكتلة (المتسلسلة) Concatemers يتم قطعها بعد ذلك إلى أطوال في حجم ح ن د الفيروسي وذلك بوساطة إنزيم قطع. وفي حالة لامدا، تصنع إنزيمات القطع كسورا متراكبة Staggered breaks عند مواقع نوعية على كلا الخيطين، مفصولة عن بعضها باثنتي عشرة نيوكليوتيدة توفر الأطراف اللاصقة **Cohesive ends** اللازمة لعملية التحليق.

ويعد فاج لامدا أحد العوامل المنتخبة للاستخدام كناقل تنسيل **Cloning vector** من أجل بناء هجن صناعية من ح ن د مع استخدام الإنزيمات التحديدية Restriction enzymes. وله عدة مزايا تجعله نظامًا ممتازًا للهندسة الوراثية. فأحد خواصه التي تميزه في التنسيل وجود منطقة طويلة من ح ن د ما بين جينات J و att، والتي يبدو أنها لا تحمل أية وظائف ضرورية للتكاثر، ويمكن أن يحل محلها ح ن د غريب.

(٢٨,١,٢,٤) الفيروسات المعتدلة كبلازميدات Temperate viruses as plasmids:

يوجد قسم آخر من الفيروسات المعتدلة التي تمتلك آلية مختلفة، تماما، من أجل الحفاظ عليها على حالة الفاج الأولي. وتشبه الفيروسات في هذه المجموعة البلازميدات. فهي لا تصبح فعلا ملتحمة مع كروموسوم العائل، ولكن، بدلا من ذلك، فإنها تتكاثر في السيتوبلازم كجزيئات ح ن د دائرية. ومن بين هذه الفيروسات المعتدلة، فاج لامدا، ولكنها تختلف اختلافًا كبيرًا عن الفيروسات فيما يتعلق بالتكاثر.

ومن المدهش، وعلى الرغم من أن الفاج الأولي البلازميدي لا يتصل فيزيائيًا مع ح ن د للعائل، إلا أن تكاثر ح ن د الخاص به يكون متوافقًا جدًا مع انقسام الخلية، حيث لا توجد إلا نسخة واحدة من الفاج الأولي مع كل كروموسوم للعائل. ويدخل في عملية التنظيم هذه بطريقة ما كابح الفاج.

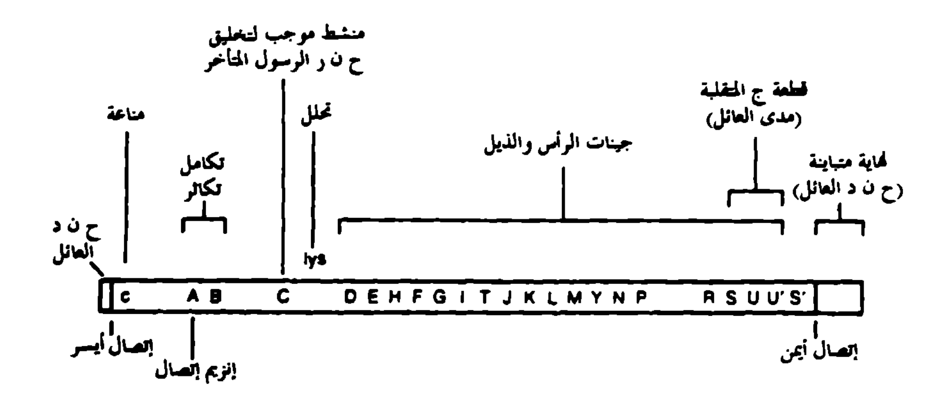
(٢٨,١,٢,٥) فاج البكتريا النقال: Transposable phage :

فاج البكتريا ميو Bacteriophage Mu:

يعد الفاج ميو واحدًا من فاجات البكتيريا التي تدعو للاهتمام نظرًا لخاصيته غير العادية للتكاثر **كعنصر نقال Transposable element**. ويسمى هذا الفاج "ميو" لأنه فاج متطفر Mutator، حيث يستحث طفرات في العائل الذي أصبح ملتحما. وتظهر خاصية تولد التطفر mutagenic بسبب أن مورث الفيروس يمكن أن يصبح مغروزًا في وسط جينات العائل، مما يجعل هذه الجينات غير نشطة (ومن ثم، فإن العائل الذي يصاب بالفاج ميو يسلك كطفرة). ويعد ميو مفيدًا لأن بالإمكان استخدامه بسهولة لتوليد متنوع واسع من الطفرات. كذلك، بالإمكان استخدام الفاج ميو في الهندسة الوراثية، أيضًا.

وكما هو معروف، فإن العنصر النقال Transposable element هو قطعة من ح ن د لها القدرة على أن تتحرك من موضع إلى آخر كعنصر مستقل. وتوجد **النقالات Tranposons** في كل الكائنات أولية وحقيقية النواة، وتؤدي أدورًا مهمة في التباين الوراثي Genetic variation. وتوجد ثلاثة أنواع من العناصر النقالة هي: **١ - عناصر الغرز Insertion elements و ٢ - النقالات Transposons و ٣ - الفيروسات Viruses** مثل "ميو" (كما يمكن إضافة الفيروسات العكسية Retroviruses التي تصيب الإنسان والحيوان). وأبسط العناصر النقالة هي عناصر الغرز حيث إنها لا تحمل جينات يمكن اكتشافها وتحرك نفسها حولها ببساطة. أما النقال فهو عنصر وراثي من قطعة فريدة من ح ن د، عادة تشفر لواحد أو أكثر من البروتينات، والتي يتصل

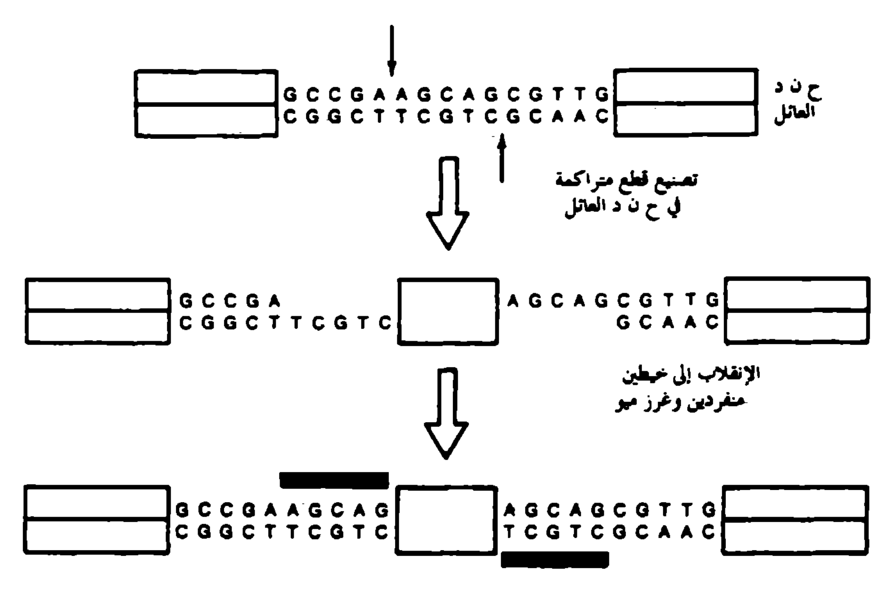
بها، عند كل طرف، عنصر غرز. وتماثل تمامًا عنصر الغرز عند كلا الطرفين، على الرغم من أن تتابع ح ن د إما أن يكون تكرارًا، وإما عكس التكرار على الطرفين ويعد فاج "ميو" عنصرًا نقالا كبيرًا جدًا، يحمل عناصر غرز وعدد من جينات "ميو" المسئولة عن تكاثر الفاج "ميو" كما هو موضح في (الشكل رقم ٧٦).



الشكل (رقم ٧٦). خريطة وراثية لفاج ميو.

وبالنظر إلى شكل فاج ميو وتركيبه، فإنه يتكون تركيبيًا من ح ن د مزدوج الخيط d.s-DNA كبير وراس إيكوزاهيدرالي وذيل حلزوني وست ألياف بنهاية الذيل. ويترتب ح ن د للفاج ميو داخل رأسه كجزيء طولي مزدوج الخيط، وله وزن جزيئي قدره ٢٥ × ١٠^{٦} دالتون (من ٣٩ كيلو قاعدة). ومن الخريطة الوراثية (الشكل رقم ٧٦)، يمكن أن ترى كتلة من المعلومات الوراثية المسئولة عن تصنيع بروتينات الرأس والذيل، ولكن الجينات الرئيسية هي تلك المسئولة عن التكاثر والمناعة. ويوجد عند الطرف الأيسر من ح ن د للفاج ميو ٥٠ - ١٥٠ زوجًا من القواعد النيتروجينية تكون من ح ن د العائل و ٥٠٠ - ٣٠٠٠ زوج من القواعد عند الطرف الأيمن من ح ن د العائل. وتتابعات ح ن د العائل هذه ليست فريدة وهي تمثل ح ن د مجاورًا للموضع الذي يمكن أن ينغرز (يتصل att.) في

مورث العائل. وعندما تتكون دقيقة الفاج "ميو"، يكون طول ح ن د المحتوي على مورث ميو كبيرًا بما يكفي لملء رأس الفاج بعد قطعه من العائل، بادئًا من الطرف الأيسر ويدخل ح ن د إلى الرأس حتى يمتلىء ولكن الموضع الموجود على الطرف الأيمن والذي يقطع عنده ح ن د يختلف من دقيقة فاج إلى أخرى.



الشكل (رقم ٧٧). يبين التحام ح ن د لفاج ميو مع ح ن د العائل مكونًا خمسة أزواج متضاعفة من القواعد في ح ن د العائل.

ولهذا السبب، وكما هو موضع بالخريطة الوراثية، فإنه يوجد تتابع متباين في ح ن د العائل عند الطرف الأيمن للفاج (يمين موضع الاتصال الأيمن att R) والذي يعني أن ح ن د العائل قد أصبح معبأ في الرأس. وتنشأ دقيقة كل فاج من خلية مصابة واحدة بحيث يكون فيها كمية مختلفة من ح ن د العائل عما هو في الدقيقة الأخرى، كما أن

تتابع القواعد في ح ن د لكل دقيقة ينشأ من نفس الخلية يكون مختلفًا. وفي بعض الحالات، تصبح رؤوس ميو الفارغة مملوءة تمامًا بـ ح ن د من العائل. ويمكن لمثل هذه الدقائق أن تنقل الجينات من خلية لأخرى فيما يسمى عملية **التوصيل Transduction**.

وكما هو موضح بالخريطة الوراثية، فإن قطعة نوعية من مورث ميو تسمى G (وهي مختلفة عن جين G) تكون قادرة على الانقلاب Invertible إما SU، وإما التوجه المقلوب الآخر U´ S´. ويحدد توجيه هذه القطعة نوع ألياف الذيل التي سوف تصنع لفاج. ونظرًا إلى أن الإدمصاص بالخلية العائلة يكون محكومًا بنوعية ألياف الذيل، لذا، فإن مدى العوائل Host range لفاج ميو يكون محددًا بتوجه هذه القطعة القلابة الموجودة في الفاج. فإذا وجدت قطعة G في التوجيه المرمز له G^+، عندئذ، يمكن لدقيقة الفاج أن تصيب سلالة K12 لـ *E. coli*. أما إذا كانت قطعة G، توجهها G^- فإنها تصيب سلالة C لـ *E. coli*، أو أنواع أخرى عديدة من بكتيريا الأمعاء Enteric bacteria. ويشفر لكلا نوعي بروتين الألياف على خيطين معاكسين داخل قطعة G. أما في التوجه G^+، فإن المحفز يكون نشطا في دفع نسخ S´ و U´، على حين يدفع ا لمحفز نسخ S´ و U، في الاتجاه المعاكس عندما يكون التوجه G´.

وعند إصابة الخلية العائلة بالفاج ميو، يحقن ح ن د داخلها، وعلى النقيض من فاج لامدا، فإن إلتحام مورث فاج ميو بمورث العائل يكون أساسيًا لكل من دورتي النمو التحللية ومولدة التحلل. ويتطلب الإلتحام نشاط منتج جين A، الذي هو **إنزيم النقل Transposase**. وعند الموقع الذي يلتحم فيه ح ن د لفاج ميو مع نظيره للعائل، يظهر عند هذا الموقع تضاعف لخمسة أزواج من القواعد، وكما هو مبين بالشكل (رقم ٧٧) فإن تضاعف ح ن د هذا للعائل يظهر نتيجة عمل قطوع متراكبة في ح ن د للعائل عند الموضع الذي يغرز فيه مورث فاج ميو ومن ثم، ينتج تحول القطعة ح ن د المفردة إلى خيوط مزدوجة كجزء من عملية التكامل.

ويمكن أن يحدث النمو التحللي لفاج ميو إما في بداية الإصابة، إذا لم يتكون كابح جين C، وإما عن طريق استحثاث مولد للتحلل Lysogen. وفي أي من الحالتين،

يشمل تكاثر ح ن د لفاج ميو تنقلاً متكررًا Repeated transposition لفاج ميو على مواقع متعددة من مورث العائل. ومنذ البداية، يحدث تنشيط موجب لتصنيع ح ن ر المتأخر ومن ثم، تتكون بروتينات الرأس والذيل. وفي النهاية، يحدث التعبير عن الوظيفة التحللية وتتحرر الدقائق الفيروسية الناضجة.

وبسبب أن فاج ميو يلتحم عند مواضع عديدة من العائل، فإنه بالإمكان استخدامه ليستحث تكوين طفرات عند مواضع عديدة. كذلك، يمكن أن يستخدم ميو أيضًا، ليحمل إلى الخلية جينات تكون مشتقة من خلايا عوائل أخرى، وهو شكل من الهندسة الوراثية في الكائن الحي *in vivo*. وزيادة على ذلك، فإنه يمكن عمل فاج ميو المتحور Modified صناعيًا، والذي يمكن أن يحذف منه بعض الجينات الضارة. وتسمى هذه الفاجات **ميو الصغيرة mini – Mu**، التي يكون محذوفًا منها أجزاء معنوية من ميو ولكنها تمتلك أطراف الفاج في التوجه العادي. وعادة ما تكون ميو الصغيرة ناقصة Defective، غير قادرة على تكوين روائق Plaques، كما أن وجودها لا يتأكد إلا بوجود الجينات الأخرى التي تحملها. وتحتوي إحدى مجموعات فاجات ميو الصغيرة على جين من العائل يسمى بيتا جالاكتوسيديز β-galactosidase (تسمى ميو - دي لاك Mu^d - lac) حيث تشير d إلى ناقص ولاك إلى لاكتوز الذي يصنعه إنزيم بيتا جالاكتوسيديز، والذي يمكن الكشف عنه في حالة الإلتحام إذ إن جين اللاكتوز lac gene موجهًا بالضبط فيما يتعلق بمحفز العائل. وتحت هذه الظروف، فإن خلية العائل سوف تكون إنزيم بيتا جالاكتوسيديز، الذي يمكن الكشف عنه في المستعمرات بوساطة لون كشاف Indicator خاص. لذا، فإن وجود مستعمرات موجبة لبيتا جالاكتوسيديز من عائل سالب لبيتا جالاكتوسيديز يكون دليلا على حدوث إصابة بوساطة Mu^d - lac، لذا فإننا نرى أن الفاج ميو يعد وسيلة مفيدة لعلماء الوراثة وكذلك لكونه مهمًا في حد ذاته.

الفصل التاسع والعشرون

فيروسات البكتيريا الزرقاء
Cyanoviruses Cyanophages

تهاجم الفيروسات البكتيريا الزرقاء Cyanobacteria، وهي التي كان يطلق عليها سابقًا الطحالب الخضراء المزرقة "Blue green algae". وتنمو البكتيريا الزرقاء في بيئات متنوعة في المياه البحرية والمياه العذبة وفي البحيرات والخلجان والقنوات، وفي برك المستنقعات ومياه الصرف الصحي والمجاري المائية الراكدة، وعلى ضفاف القنوات والترع والمصارف وفي حقول الأرز وعلى أحجار الموردات وأماكن الوضوء ودورات المياه العامة، حتى إنها تنمو على الأصص والأزيار الفخارية. وقد سجلت، أيضًا، هذه البكتيريا الزرقاء في الينابيع الحارة، وفي تجمعات مياه الأمطار أو التربة المتشبعة بالماء.

وحيثما تنمو البكتيريا الزرقاء فإنه توجد فيروسات (فاجات بكتيريا) تهاجمها حيث تؤدي هذه الفيروسات أدوارًا لا تقل أهمية عن الأدوار التي تؤديها فيروسات الأنواع البكتيرية الأخرى، كما أنها تتواجد بأعداد كبيرة وتؤثر على أنواع وكثافة الفلورا الطبيعية للبكتيريا الزرقاء في بيئاتها. وبمعنى آخر، فإن وجود فيروسات البكتيريا الزرقاء يعطي دليلاً على نوع، أو أنواع البكتيريا الزرقاء، بل إنها قد تكون عاملاً محددًا على سيادة نوع على آخر، أو حتى القضاء على أنواع معينة، إضافة إلى ذلك، فإن فيروسات البكتيريا الزرقاء تستخدم:

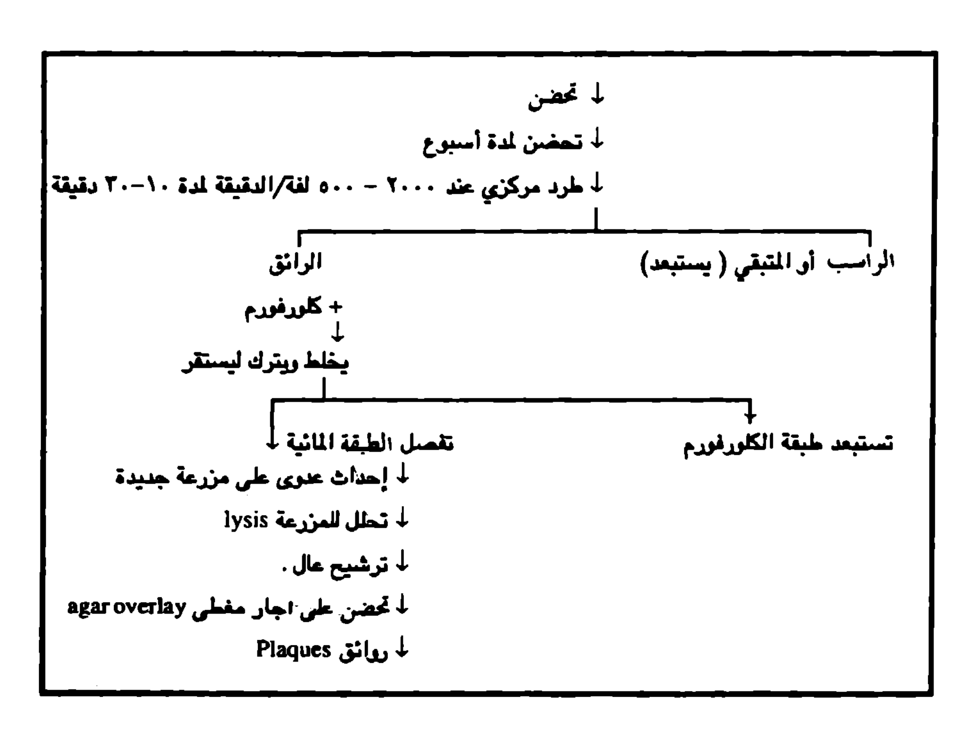
١ - في التعرف الدقيق على أجناس البكتيريا الزرقاء وأنواعها وسلالاتها بوساطة التنويع بالفاج Phage-typing.

٢ - للدراسة البيئية لأنواع البكتيريا الزرقاء، معدلات نموها وكثافتها وتوزيعاتها البيئية.

٣ - مؤشرًا ودليلاً على التلوث وخاصة في مياه الصرف الصحي ومياه الشرب.

وفيما يتعلق بالنقطة الأخيرة، فقد بينت الدراسات أن فيروسات البكتيريا الزرقاء يمكن استخدامها دليلاً على التلوث الميكروبي للمياه، شأنه في ذلك شأن الاستدلال على تلوث المياه ببكتيريا القولون Coliforms or Colon bacteria. وقد كان روبرت سافرمان Rabert Safferman وماري إلين موريس Mary - Elen Morris هما أول من درس فيروسات الطحالب الخضراء المزرقة (1963) واستطاعا أن يعزلا فيروسًا يعمل على الطحالب الخضراء المزرقة الخيطية. وكان أول فيروس يعزلانه يصيب الأشكال الخيطية من لينبيا *Lyngbya* وفورميديام *Phormidium* وبلكتونيما *Plectonema* وسمياه LPP-1. عند فحص الفيروس بالمجهر الإلكتروني لاحظا أنه عديد الأضلاع Polyhedral وقطره ٦٦ نانومترًا. لكن، بعد تنقيته، تضح أن الدقائق الفيروسية ذات ذيل قصير طوله ١/٤ طول الرأس تقريبًا. كما اتضح أن الفيروس LPP-1 يعطي روائق Plaques تتباين في الحجم من ١, مم إلى أكثر من ٨ مم في القطر (لاحظ أن هذا التباين يكون واضحًا جدًا في معظم فيروسات البكتيريا عما عداها. ولهذا أسباب كثيرة)؛ وقد وجدا أن للفيروس متباينتين Variants تختلفان في وقت الظهور بعد التحضين (٦٠ أو ٧٨ ساعة) وأن الروائق الكبيرة تظهر أسرع من الصغيرة وتتخلص طريقة عزل فيروسات الطحالب Phycoviruses كما يلي:

مزرعة طحالب + عينة مياه من عدة أماكن لها طحالب (أو من المكان المعزول منه الطحالب)



الشكل (رقم ٧٨). تخطيط لطريقة عزل فيروس طحلبي (بتصرف عن سافرمان، ١٩٦٨م).

ومن بين الفاجات التي تصيب الطحالب الخضراء المزرقة :

١ - الفاج Al-L يصيب أنابينا *Anabaena* ويتبع مجموعة Cyanomyovirus.

٢ - الفاج A2 يصيب أنابينا *Anabaena* ويتبع مجموعة Cyanopodovirus.

٣ - الفاج Ac-1 يصيب أناسيستيس *Anacystis* وكروكوكاس *Chrococcus* ويتبع مجموعة Cyanopodovirus.

٤ - الفاجات N15, N10 وتتبع مجموعة Cyanomyovirus.

٥ - الفاجات N_{24}, N_{22}, N_{20} وتتبع مجموعة Cyanopodovirus.

٦ - الفاجات AS-1 (M) ويصيب أناسيستيس وأنواع سينيكوكوكاس *Synechococcus* ويتبع مجموعة Cyanomyovirus.

٧ - الفـاج GIII ويصيـب مجموعـة مـن الطحـالب الخضـراء المزرقـة ويتبـع مجموعـة Cyanopodovirus.

٨ - الفاجـات LPP-1 و Lpp-2 و LPP-3 وتصيـب *Lyngbya* وبلكتونيمـا *Plectoneme* وفورميديام *Phormidiam* وتتبع مجموعة Cyanopodovirus.

٩ - الفاج N-1 ويصيب نوستوك *Nostoc* وأنابينا ويتبع مجموعة Cyanomyovirus.

١٠- الفاج S-1 ويصيب سينيكوكوكاس ويتبع مجموعة Cyanostylorivirus.

١١- الفاج S-2L يصيب سينيكوكوكاس ويتبع مجموعة Cyanostylovirus.

١٢- الفاج SM-1 ويصيب سينيكوكوكاس ومايكروسيتيس *Microcystis* ويتبع مجموعة Cyanopodovirus.

إن اكتشاف عدد من أنواع فاجات البكتيريا الزرقاء قـدم نظامًا نموذجيًا لفـهم الطبيعة الفسيولوجية والوراثية للبكتيريا الزرقاء أو للطفرات المقاومة للفاج. وقد ظهر، حديثًـا، باسـتخدام الطحلـب الأزرق المخضـر Blue-green وحيـد الخليـة أناسـيتيس نيديولانز *Anacystis nidulans* وطفرة الفاج الخاص به AS-1، أن النحاس بـالذات يؤثـر نوعيًا على النمو وعلى وصفـات التمثيـل الضوئـي ونشـاطات إنزيمـات الفوسـفات القاعدية والحامضية.

وفي عـام ١٩٨٧م، تمكـن علمـاء مـن قسـم النبـات والأحيـاء الدقيقـة بجامعـة الكويت من عزل فاجات متخصصـة على نوسـتوك مسـكورام *Nostoc muscorum* مـن مياه الصرف الصحي أحدهمـا (N-1L) ذو رأس سداسـي وذيـل طويـل علـى حين أن الفاج الثاني (N-2S) كان قصير الذيل.

كذلـك تعـد تفـاعلات الفاجـات مـع البكتيريـا الزرقـاء - Cyanophage Cyanobacterium interactions نظمًا مفيدة لفحص تأثير إصابة الفاج على الأيـض ذاتـي التغذية الضوئية Photoautotrophic metabolism، إذ إن إصابـة البكتيريـا ا لزرقـاء بالفـاج تبـدل، بدرجة ملحوظة، تصنيع وتكسيرح ن د DNA والـبروتين وكذلـك التمثيـل

الضوئي، أيضًا. ويعتمد تكشف الفاج على الضوء اللازم لتثبيت ثاني أكسيد الكربون في التمثيل الضوئي. ومع ذلك، ففي البكتيريا الزرقاء يكون الضوء مطلوبًا ليس، فقط، لوفرة النمو وتوليد أدينوسين ثلاث الفوسفات ATP ولكن، أيضًا، لتبديل نشاطات إنزيمات مهمة ومسارات أيضية عديدة. وقد وجد بعض العلماء أن الفاج N-1 الذي يصيب نوستوك مسكورام عند تغييرات فسيولوجية أثناء تجربة الخطوة الواحدة. إذ تزايد النشاط النوعي لإنزيم ديهيد روجينيز جلوكوز ٦ فوسفات - Glucose-6 phosphate dehydrogense- مؤقتًا أثناء فترة الخسوف، على حين تزايد نشاط إنزيم جلوتامين سينثيز Glutamine synthetase حتى نهاية فترة الخسوف (٢ - ٤ ساعات)، ثم ظل عاليًا حتى نهاية فترة الكمون (نحو ٧ ساعات). أما معدل إنزيم فوسفوريبولوكاينيز Phosphoribulokinase والأوكسيجين O_2 الصاعد من التمثيل الضوئي فقد تناقصا حتى نهاية فترة الخسوف. ولقد ظل نشاط إنزيم نيتروجينيز Nitrogenase عاليًا طوال فترة الخسوف ثم تناقص بسرعة بعد ٥ ساعات وقد تناقص مستوى جلوتامين سينثيز بالتوازي الكلي في المستخلص.

ولأن بعض أنواع البكتيريا الزرقاء تنتج نموات مزدهرة Blooms شديدة وخطيرة، لذا يلزم، في كثير من الأحيان، مقاومتها. وقد توفر فاجات البكتيريا الزرقاء بديلاً عن / أو تعزيزًا للمبيدات الطحلبية Algicides الكيميائية في مقاومة البكتيريا الزرقاء الموجودة بالقاع Benthic أو العوالق Plankton (سافرمان وموريس Safferman & Morris 1964). كما أن ذلك قد يساعد في مكافحة البكتيريا الزرقاء المقاومة للمبيدات العشبية Herbicides.

وقد قام علماء بمكافحة نمو البكتيريا الزرقاء في فلوريدا التي تسبب مشكلات. ومن هذه الأنواع البكتيريا الزرقاء عوالق أنابينا فلوس أكوى *Anabaera flos aquae* وأنابينا سرسيناليز *A. circinalis* وأنواع القاع التي تكون حصرًا Benthic mat-forming مثل لينبيا فوليي *Lyngbya wollei*. وترتبط أنابينا فلوس - أكوى بإنتاج سموم وتكون حويصلات مغايرة Heterocysts ومثبتة للنيتروجين، على حين أن لينبيا فوليي لا تكون

حويصلات مغايرة وتتميز برائحة سيئة وتنتج سمومًا. وقد عزلت فاجات البكتيريا الزرقاء: ACI, AFI, LWI وعند حقنها في البكتيريا الزرقاء سببت نقصًا في النمو الحيوي كما أوضح ذلك قياس الكلوروفيل. وكان التأثير أشد في الطور اللوغاريثمي. وعند حقن هذه الفيروسات في الأطوار المبكرة للبكتيريا الزرقاء، أحدثت اختزالاً قدره ٨٠ - ٩٥٪ في الأنواع الثلاثة كما أن حقن نوعي أنابينا في طور الثبات أدى إلى نقص فيهما.

وقد عزل الكثير من فيروسات الطحالب Viruses of algae ومن أمثلتها طحلب أودوحونيام Oedogonium وكارا Chara وغيرهما.

الفصل الثلاثون

وراثة الفيروسات

Genetics of Viruses

تعد المادة الوراثية لكل الكائنات الحية، بما فيها الفيروسات، المكون الأساسي الأول. وبناء عليه، فإن الحامض النووي (المورث = Genome = الجين) يحدد كل الصفات التركيبية والوظيفية لأي كائن.

وفي عام ١٩٧٧م، انتشر وباء فيروسي في مصر سبب مرضًا خطيرًا وقاتلا في الإنسان: وقد تم التعرف على العامل المسبب بأنه فيروس حمى الوادي المتصدع* Rift (RVFV) Valley Fever Virus والذي كان معروفًا أنه يسبب مرضًا في الأغنام والماشية، خاصة في منطقة الوادي المتصدع في كينيا وأوغندا وجنوب إفريقيا منذ عام ١٩٣٥م. وقد بينت الدراسات المستفيضة بأن فيروس حمى الوادي المتصدع الذي عزل من مخ رجل مات بالمرض بمدينة الزقازيق، هو خليط من المتباينات Variants، كما ظهر من معايرة الروائق وتقنيات أخرى فيما بعد. وتختلف هذه المتباينات (السلالات Strains) في مادتها الوراثية (جينات معينة قليلة) عن النوع الأصلي (والذي يسمى بالنوع البري Wildtype). بناء عليه، فإن أي تغيير أو تبديل في جين أو أكثر من المادة الوراثية للفيروس سوف يغير، بالتالي، بعض صفات الفيروس بما فيه الإمراضية Pathogenicity، ومدى العوائل Host-range ودرجة التعبير عن الأعراض. وهذه المتباينات التي يمكن أن تحدث في العديد من الفيروسات وتعرف، عادة، "بالطفرات Mutants".

---

* إنتشر هذا الوباء في بلاد عدة بالقارة الإفريقية على مدى السنوات التالية وإنتشر بالمملكة العربية السعودية في سبتمبر عام ٢٠٠٠م.

وتعتبر المتباينات (الطفرات) الوراثية في أي فيروس مفيدة جدًا في النواحي التالية:

١ - لمعرفة التحليل الوراثي والجينات الموجودة بالنوع البري.
٢ - لإنتاج اللقاحات.
٣ - لفهم أفضل للعلاقات بين الفيروسات وكذلك في كونها مصدرا للتباين من خلال التطور الذي يحدث.
٤ - فحص العيوب الناشئة عن إصابة الخلية بطفرة من الفيروس، حيث إنه يمكن التعرف على الوظائف المشفرة بالفيروس والمعبرة عن الجينات الفيروسية، وبالتالي، الحصول على صورة واضحة وشاملة عن العمليات التي تحدث في تكاثر الفيروس.
٥ - تحليل التفاعلات الوراثية التي تحدث بين طفرات من فيروس والتي توفر معلومات عن:
أ - تركيب المجين (المورث genome) الفيروسي.
ب - تركيب الجين (المورثة) ووظيفته Gene structure and function.
جـ - الآليات التي تترتب بها الجينات في توافقات Combinations جديدة.
د - بناء خريطة وراثية Construction of a genetic map.

إن تطور الدراسات الوراثية في الفيروسات أصبح ممكنا مع استحداث تقنيات الروائق Plaques والنظائر المشعة المتعقبة Tracing radioisotopes للنظام الحيوي الخالي من الخلايا Cell-free system والتحليلات الوراثية الدقيقة. وحيث إن التفاعلات الوراثية ظواهر نادرة جدًا، لذا، فإن تطوير علامات وراثية Genetic markers ثابتة يجب أن يسهل الكشف عنه وأن ينتج منه - طفرة مفردة Single mutation. ومن العلامات الوراثية المفيدة: حجم الرائقة، والأنتيجينات المستحثة نوعيا بالفيروس والمقاومة للأدوية ومدى العوائل وعدم القدرة على النمو عند درجات حرارة مرتفعة.

(١, ٣٠) لماذا تحدث التباينات الوراثية Why genetic variations occur

من المعروف جيدًا أن جزيئات الحامض النووي الفيروسي تتكاثر بآليات تصنع نسخًا بالضبط ، تمامًا ، من تتابعات نيوكليوتيدية Nucleotide sequences وتضمن ثبات المعلومات الوراثية بالضبط جيلا بعد جيل.

فإذا كانت هناك سلالة أصلية من الفيروس أي النوع البري wild type ، فإنه ، تحت ظروف معينة أو تلقائيا Spontaneously (١ لكل ١٠^٥) قد يحدث إنحرافًا وتغير عن التكوين الوراثي الأصلي. وتسمى هذه السلالة نوع طفرة Mutant - type. وبمجرد أن تظهر الطفرة ، فإنها سوف تتكاثر ، أيضًا ، بنفس الدقة التي يتكاثر بها النوع البري.

ويمكن تغيير أي نيوكليوتيدة على طول المورث (المجين = Genome) مما قد ينتج عنها طفرة قوية ثابتة نتيجة للتغير في الشفرة الوراثية Genetic code. وفي بعض الحالات الأخرى ، فإن تبديل نيوكليوتيدة لا يؤدي إلى تغير في تركيب منتج الجين. فمثلا ، مورث (مجين) الفاج T4 به ٢ × ١٠^٥ نيوكليوتيدة والذي يعني أنه يوجد ٢ × ١٠^٥ موضعًا يمكن تبديلها ، وعمليًا ، فإن نصف هذه التبديلات يحتمل أن تؤدي إلى طفرات يمكن الكشف عنها.

(٢, ٣٠) تغيرات الحامض النووي في الطفرات Nucleic acid changes in mutants

قد يختلف جين الطفرة عنه في النوع البري في طرق مختلفة :

(١, ٢, ٣٠) طفرات النقطة Point mutations

وهي التي يحدث فيها إحلالات Substitutions لزوج من القواعد بزوج آخر يحل في مكانه. ويؤدي مثل هذا التغير إلى تبديل في التتابع النيوكليوتيدي عند موضع واحد ، فقط ، دون أن يؤثر على حجم الجين. ويمكن أن يعكس Reversed التركيب الوراثي أو أن يستعاد Restored كالنوع الأصلي ، ومن ثم ، فإن التغيرات العكسية Reversion تغير الطفرة إلى النوع البري.

(٣٠,٢,٢) طفرات تبديل الإطار Frame shift mutations:

تتكشف هذه الطفرات بغرز Insertion (إضافة Addition) أو حذف Deletion (فقد Missing) زوج واحد من القواعد (كريك وآخرون Crick et al 1961). وبهذا، ففي طفرات تبديل الإطار، إما أن تزداد الرسالة الوراثية وإما أن تنقص بقاعدة واحدة مع ما يعقبها من تغير في الشفرة الوراثية Genetic code بقاعدة واحدة من موضع الطفرة. وبسبب أن إطار القراءة Reading frame يتكون من ثلاثيات Triplets من القواعد النيتروجينية، فإن إطار القراءة كله يتبدل Shifted من نقطة التبديل. بناء عليه، فإن طفرات تبديل الإطار تكون قاسية جدًا في تأثيرها على وظيفة عديد الببتيد الخاص بالطفرة. إن انقلاب Reversion (رجوع) طفرات تبديل الإطار إلى النمط المظهري Phenotype البري يمكن أن يتحقق إما بإضافة القاعدة الناقصة، وإما بحذف القاعدة الزائدة.

إن حذف كميات كبيرة من تتابعات القواعد يمكن أن يؤدي إلى آثار مأساوية على وظيفة أو وظائف جينات أساسية معينة (طفرات ذات معنى Sense mutation). فعلى سبيل المثال، يمكن حذف حتى ٢٠٪ من مجين (مورث) الفاج بدون أن يؤثر على حيويته، خاصة عندما تكون هذه المنطقة مسئولة عن تولد التحلل Lysogeny ولهذا السبب، فإن العديد من الفيروسات تنتج دقائق فيروسية منقوصة Defective virus particles. وتكون هذه الدقائق الفيروسية المنقوصة غير قادرة على البدء في دورتها الخاصة بالإضافة إلى أنها تحتاج وجود فيروس مساعد Helper virus يمكنه أن يوفر الوظائف الغائبة.

(٣٠,٢,٣) غرزات وإحلالات لتتابعات كبيرة

Insersions and sustitutions of large sequences

مثل هذه الطفرات يحدث فيها تبديلات عظمى في التتابعات النيوكليوتيدية. وقد أمكن الحصول على مثل هذه الطفرات من فيروسات بابوفا وفيروسات بيكورنا

والفيروسات العبائية وفيروسات رابدو وفيروسات ح ن ر السرطاينة وفيروس تبرقش التبغ TMV وغيرها. ونادرًا أبدًا أن تحدث طفرات الانقلاب Reversion أو الحذف كما أن عدم الانقلاب Non-revertibility هو إحدى الحقائق التي تستخدم للتعرف على نوع الطفرة.

وتحدث الطفرات في مدى يبدأ من تأثير غير ملحوظ إلى تأثير قاتل كلية. وليس لأي من النوعين المتطرفين من الطفرات أية قيمة عملية لعالم الفيروسات نتيجة لغياب تأثير العامل النوعي الشكلي Phenotypic effect وعدم القدرة على تنمية الفيروس في مخزونات Stocks. بناء عليه، فإن الفيروسات المنقوصة تعد مجزية. ويمكن أن تقسم الطفرات إلى طفرات نوعية أو تخصصية Specific or specialized أو طفرات غير تخصصية Non-specialized.

(٣٠,٢,٤) الطفرات النوعية Specific mutants

الطفرات النوعية هي تلك التي يكون بها عيب في جين معين أو في مجموعة صغيرة من الجينات، ومن أمثلة هذا النوع من الطفرات متباينات نوع الرائقة Plaque-type variants مثل طفرات الروائق الدمجية Syncytial plaques في القوباء البسيطة، والطفرات المقاومة للعقاقير Drug-resistant mutants مثل الطفرات المقاومة لجوانيدين Guanidine لفيروس شلل الأطفال، وطفرات مدى العوائل Host range mutants لفيروس أدنو، والطفرات الناقصة كميوحيويًا مثل طفرات ثايميدين كاينيز Thymidine Kinase للفاج T4. ويعد هذا النوع من الطفرات ذا أهمية عظيمة في التخريط الوراثي Genetic mapping ولفهم الكيمياء الحيوية والفسيولوجيا الخاصة بتكاثر الفيروس.

(٣٠,٢,٥) الطفرات العامة General mutants:

إن الطفرات المتخصصة هي تلك التي تؤثر على أغلب جينات الفيروس إن لم يكن كلها. وتعرف هذه الطفرات بأنها طفرات مميتة شرطية Conditional lethal

mutants ، لأنها تكون قاتلة تحت مجموعة واحدة من الظروف ولكنها يمكن أن تتكاثر أكثر أو أقل عن العادي تحت مجموعة أخرى من الظروف.

يوفر استخدام الطفرات المميتة الشرطية أداة قوية لدراسة الوراثة والأحياء الجزيئية Molecular biology للفيروسات. ولا تنتج هذه الطفرات فيروسًا معديًا Infectious virus عند الظروف المميتة (أي الظروف غير السامحة Non-permissive) ولكنها تنتج خلفة عادية معدية تحت ظروف أخرى (الظروف السامحة Permissive).

وقد تكون الطفرات المميتة الشرطية حساسة للحرارة Temperature sensitive (ts) أو لمدى العوائل Host range (hr). وقد تم عزل الطفرات الحساسة لدرجة الحرارة ts من معظم الفيروسات الحيوانية ومن بعض الفاجات ومن الفيروسات النباتية ، فهي تنمو عند درجات حرارة منخفضة (سامحة) ولكن ليست عند درجات حرارة عالية غير سامحة). وعلى المستوى الجزيئي ، فإن هذه الطفرات منقوصة ظاهريًا بسبب تبديل في تتابع حامض أميني معين في أحد البروتينات الفيروسية والتي تجعل البروتين غير قادر على مواصلة التشكيل الوظيفي أو الحفاظ عليه Functional configuration عند درجة الحرارة غير السامحة. أما طفرات مدى العوائل (hr) فإنها يمكن أن تنمو وأن تكون روائق في نوع واحد من الخلايا (الخلية السامحة). وتمتلك طفرات الفيروس البكتيري لمدى العوائل تتابعات الحامض النووي متبدلة Altered والتي تقرأ على أنها طفرات عديمة المعنى Non-sense mutations بوساطة خلية العائل غير السامحة مما ينتج عنها إنهاء Terminations لسلسلة عديد الببتيد وبالتالي ، إلى إصابة مجهضة Abortive infection. وعلى الجانب الآخر ، فإن خلية العائل السامحة تحمل ح ن ر ناقل (tRNA) يمكنه أن يتعرف على التتابع المتبدل Altered sequence كشفرة Codon ويفرز حامضًا أمينيًا مما ينتج عنه تكوين عديد ببتيد وظيفي. وعقب استحثاث وعزل مجموعة من الطفرات المميتة الشرطية ، فإن الدراسات التي عملت على العدوى الخليطية Mixed infections بزوج من الطفرات تحت ظروف سامحة وغير سامحة قد أعطت معلومات فيما يتعلق بوظيفة الجين وتتابع الجين (التخريط الوراثي) وآليات تكاثر الفيروس عند مستوى جزيئي.

(٣٠,٣) أسباب الطفرات Causes of mutations

(٣٠,٣,١) تلقائية: Spontaneous

تنشأ الطفرات في العشائر Populations تلقائيا بمعدل منخفض.

(٣٠,٣,٢) المستحثة Induced:

وهذه طفرات مستحثة أو مدفوعة بقوة جبرية وتنشأ نتيجة لإضافة كيميائيات معينة أو معاملات معينة أو التعرض لكليهما. وتسمى العوامل التي تسبب أو تستحث الطفرات بأنها عوامل مطفرة Mutagens. وبناء عليه، فإنه يمكن زيادة الطفرات ذات المعدل المنخفض بإستخدام أي عامل مطفر مناسب (يحدث ذلك في ١٪ من العشيرة). وتعد الأشعة فوق البنفسجية Ultraviolet rays (UV) والحرارة من بين العوامل الطبيعية المطفرة والمطفرات الكيميائية التي تستخدم على نطاق واسع كمطفرات للفيروس هي: سلفونات إيثيلين ميثان Ethylene methane sulfonate وحامض النيتروز Nitrous acid وهيدروكسيل أمين Hydroxylamine و ٥ - بروموبوراسيل - 5 bromouracil. ويسبب حامض النيتروز تبديلا في القواعد النيتروجينية للحامض النووي الذي يؤكسد أو ينزع مجموعة الأمين Deaminates إما أدينين وإما سايتوسين، أما سلفونات إيثيلين ميثان (أو إيثان Ethane)، فإنها تزيل القواعد خاصة الجوانين، على حين أن ٥ - بروموبوراسيل يحل محل ثايمن ليعمل كقاعدة مناظرة Base analogue. ويستخدم كل من ٥ - برومودي أوكسي يوراسيل - 5 bromodeoxy uracil أو بروفلافين Proflavine ونيتروزوجوانيدين -N-methyl-N'- Nitrosoguanidine (NTG) مع فيروسات ح ن د (دنا DNA). أما ٥ - فلوروبوراسيل 5 - fluorouracil فإنه يستخدم مع فيروسات ح ن ر (رنا = RNA). ومن ثم، فإن المعاملة بهذه المواد المطفرة للفيروسات التي تنمي في وسط يحتوي عليها، خاصة المواد الثلاث الأخيرة، فإنها تضمن التفاعلات الوراثية.

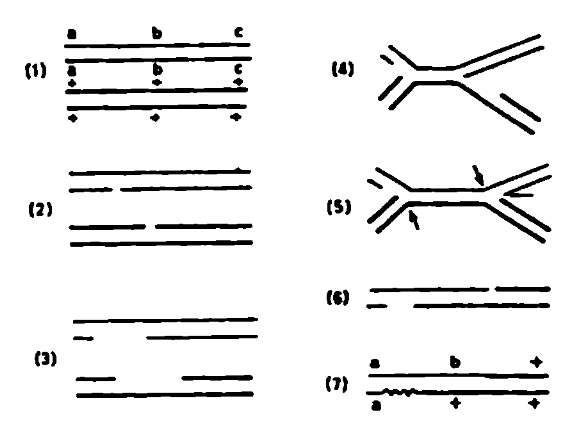
(٣٠,٤) التفاعلات الوراثية Interactions:

وهذه تتضمن: معاودة الارتباط Recombination ومعاودة التنشيط التقاطعي Cross - reactivation ومعاودة التنشيط التكاثري Multiplicity reactivation.

(٣٠,٤,١) معاودة الارتباط Recombination:

تعد معاودة الارتباط آلية عظمى تتوزع عن طريقها الطفرات في كل أنحاء العشيرة. ويمكن أن يتحقق ذلك بمعاودة ترتيب Re-arrangement التكوينات الوراثية لمختلف الفيروسات من أجل إنتاج مترابطات (متوافقات = توليفات) Combinations جديدة أو هجن Hybrids. فإذا اختلف فيروسان أبويان في موضعين وراثيين، فإنه يمكن الحصول على أربعة أنماط وراثية Genotypes، أما إذا اختلفا في ٣ مواضع وراثية. عندئذ، يمكن الحصول على ٨ مترابطات (بمعنى $٢^{ن}$، حيث ن تمثل عدد المواضع الوراثية التي تختلف عندها الآباء بوساطة الطفرة). وهذا ما يبدو في الشكل (رقم ٧٩).

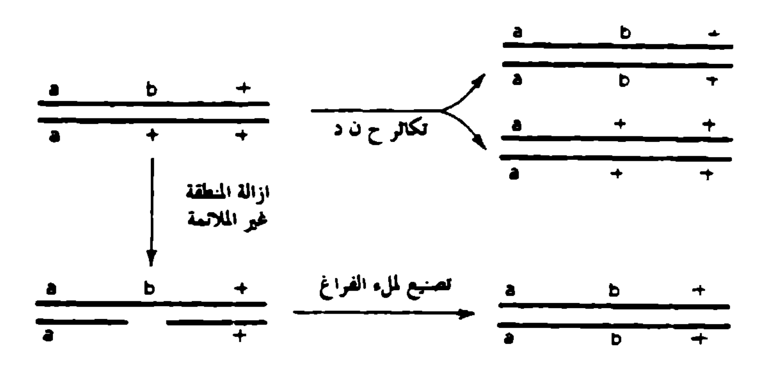
ويتم حدوث معاودة الارتباط أثناء دورة تكاثر الفيروس ويتطلب ذلك حدوث التفاعلات بين المورثات (الجينات = Genomes) غير المغطاة Uncoated. ويحدث تسهيل لذلك بوساطة عمل عبور Cross يتم في خلايا العائل التي تصاب تزامنيًّا بفيروسات أبوية مختلفة، فإذا أصيبت كل خلية بعديد من الفيروسات من كل نمط جيني Genotype، عندئذ، فإن كل الخلايا سوف تكون مصابة إصابة خلطية Mixidely infected. وسوف يسمح نمو الخلايا خلطية الإصابة بحدوث معاودة الارتباط ويمكن أن يتم دراسة وتحليل إعادة تكوينها الوراثي Genetic reconstituion. فإذا تزاوجت Crossed طفرتان حساستان للحرارة (ts)، فإن الفيروسات الخلفة يمكن معايرتها عند درجة الحرارة السامحة لتحديد العدد الكلي للفيروس في كل الأنواع الوراثية عند درجة الحرارة غير السامحة ولحساب عدد معاودات الارتباط من النوع البري (ts^+).



الشكل (رقم ٧٩). تكوين جزيئات معاودة الارتباط من ح ن د Recombinant DNA. فالمورثان (الجينات Genomes) الأبويان c, b, a و + + + (١) وقطعا عشوائيًا (٢) تحولت القطوعات إنزيميًا إلى فراغات Gaps (٣) ويحدث ازدواج القواعد بين الخيوط المفردة المحتوية على تتابعات قواعد مكملة Complementary (٤) متلوة بالانشطار Cleavage (الأسهم) ومن المحتمل إزاحة الخيوط Displacement (هجرة الفرع Branch migration (٥) لإنتاج مورث (هجين = Genome) به قطوعات وفراغات (٦) والتي تملأ وتليس Sealed بتصنيع تتابعات ح ن د مكملة ومعاودة ارتباط المورث (٧) وسوف يكون انشطار الخيط المقابل في طور (٥) أنواعًا مختلفة من معاودة الارتباط. (عن Smith and Ritchie,1980).

وقد وصف نوعان من معاودة الارتباط للفيروسات.

الأول: يعرف بإعادة التوزيع أو التنظيم Reassortment، والذي يقتصر على الفيروسات ذات المورث المجزأ Segmented genome مثل الإنفلونزا، وفيروسات ريو Reoviruses وفيروس إتش آي في HIV المسبب للأيدز ولاقم البكتيريا فاي -٦ - ϕ) (6. ويحدث هذا النوع عن طريق أداة الترتيب Rearrangement لقطع المورث أثناء تجميع الفيريون والذي يشبه التوزيع العشوائي للعلامات الوراثية Genetic markers على الكروموسومات المختلفة في الكائنات حقيقية النواة.



الشكل (رقم ٨٠). تكوين معاودات ارتبـاط متماثلـة Homozygous من وسائط متباينـة Heterozygous بوساطة تضاعف ح ن د وإصلاح الخطأ Mismatch repair. ومعاودة الارتباط هـذه تكون متباينة عند الموقع b (عن سميث وريتشي، ١٩٨٠م).

ويلاحظ أنه لا يوجد أي فيروس يحتوي على مورث مـن ح ن د مجزأ، لهذا، فإن معاودة الارتباط تكون قاصرة على الفيروسات التي تمتلك مورثـا مـن ح ن ر RNA والتي يتم فيها إعادة التوزيع.

ومن أمثلة ذلك ما يحدث للطفرات الحساسـة للحرارة في فيروس الإنفلونزا، إذ تظهر ميلا عاليًا لإنتاج معاودات ارتباط من النوع البري(ts^+). ومثل إعادة التوزيع هذه يمكن أن تحدث عشوائيًا وبدون تخصصية لأية قطعة من المورث. وبالإضافة إلى ذلك، فقد بين ليفر Laver وداوني Dowine عام ١٩٧٦م بأن فيروس الإنفلونزا يعمل ثلاثـة أنـواع مـن البروتينـات النوعيـة للفيروس هـي M (الأرضيـة) ونيوراميـنيديـز Neuraminidase والملزن الدموي Haemagglutinin وأن جيناتها تظهـر انعـزالا مسـتقلا Independent segregation. وفي الإنفلونـزا، فإنـه يمكـن أن يحـدث معـدل عـالي مـن معاودات الارتباط (٢٠٪)، وإلا فإنها قد لاتحدث على الإطلاق (صفر٪).

كما لوحظ، أيضًا، ظاهـرة أن تتكـون - أو - لا تتكـون All - or - none formation معاودات إرتباط عند تزاوج طفرات حساسة للحرارة بين فيروسات ريو.

أما النوع الثاني: من معاودة الارتباط فهو ما يسمى بمعاودة الارتباط الجزيئي Molecular recombination. وهو يعني تبادل المادة الوراثية بين مورثين متماثلين Homologous. ومثل معاودة الارتباط الجزيئي هذا يعد ظاهرة **لفيروسات ح ن د DNA - viruses** (الشكل رقم ٨٠).

وفي مثل معاودات الإرتباط هذه، تحدث التفاعلات (التزاوج Mating) بين مختلف جزيئات ح ن د DNA حيث ترتبط قطع من أحد الجزيئات مع قطع من جزيء آخر فيزيائيًا وكيميائيًا. ومثل هذه العملية من العبور Cross-over تتضمن إنتاج جزيء معاود الارتباط مشتقا من كلا الأبوين. وفي هذا النوع، يعتمد تكوين معاود الارتباط على مشاركة مناطق من ح ن د تكون مكملة في تتابع القواعد. وبهذا، فإن العبور يحدث في مناطق من المورث (المجين Genome) الأبوي، وأن الارتباط والوصل Synapse يعتمدان على تكوين مناطق مربوطة بروابط الهيدروجين الثابتة بين خيطين مفردين من جزيئين مختلفين.

ومعاودة الارتباط هي تفاعل يساعد فيه إنزيم من الإنزيمات النووية Nucleases سواء من الإنزيمات النووية الداخلية Endonucleases، أو من الإنزيمات النووية الخارجية Exonucleases، فتحدث قطوعا Nicks وفراغات Gaps في خيطي ح ن د كي تسمح بتكوين الوصلات Synapsis. بعدئذن يقوم كل من إنزيمي بلمرة ح ن د DNA polymerase وإنزيم اللحام Ligase كي تسد (تليس) الفراغات عقب التهجين.

(٢,٤,٠,٤) معاودة تنشيط التكاثر Multiplicity reactivation

ويمكن أن يحدث هذا عندما توجد دقيقة فيروسية غير نشطة Inactive فتصبح نشطة عن طريق تفاعلها مع دقيقة فيروسية أخرى غير نشطة. إذ تحدث معاودة إرتباط Recombination بين الأحماض النووية المعطوبة Damaged للأبوين ومن ثم، تنتج مورثا (مجينًا = Genome) حيًا Viable له القدرة على التكاثر وبالطبع، سوف تصبح

الفيريونات الناشئة سلالة جديدة. وهذا ما يمكن أن يحدث عند استعمال اللقاحات الحية المضعفة Attenuated vaccines وبين عدوى سابقة أو لاحقة فينتج عنه فيروس أشد ضراوة.

(٣٠,٤,٣) معاودة التنشيط التقاطعي Cross - reactivation

ويتم هذا بين مورث (Genome مجين) من فيريون نشط وبين مورث من دقيقة فيروسية غير نشطة حدث لها تثبيط بطريقة ما. عندئذ، يعاود الإرتباط جزءا من مورث الفيروس المثبط مع مورث من ذلك الأبوي النشط. وتستخدم معاودة التنشيط التقاطعي للحصول على فيروس إنفلونزا أ٢، أمكن الحصول على معاودة ارتباط تبقى على القدرة الأنتيجينية Antigenicity لـ أ٢ بالإضافة لقدرة النوع أ الأبوي على النمو في جنين الدجاج.

(٣٠,٥) التفاعلات غير الوراثية Non - genetic Interactions

(٣٠,٥,١) خلط الأنماط المظهرية Phenotypic Mixing

ويعني هذا مشاركة بين نمط مظهري Phenotype ونمط وراثي Genotype مغاير Heterologous. ويحدث هذا عندما يدخل مورث لأحد الفيروسات عشوائيًا داخل غطاء Capsid لفيروس مختلف أو داخل غطاء مكون من كلا الفيروسين. ولا يعد هذا تغيرًا وراثيًا ثابتًا حيث إنه، عند تكاثر خلط الأنماط المظهرية، سوف تنتج خلفة معلبة Encased في أغطية مناظرة للنمط الجيني Genotype.

(٣٠,٥,٢) خلط الأنماط الوراثية Genotypic Mixing:

وهذا يعني تكوين لاقحة متباينة Heterozygosis تتكون من دقيقة فيروسية واحدة لكنها يمكن أن تعطي خلفة لنوعين أبويين متميزين. ولا يعد هذا، أيضًا تغيرًا، وراثيًا ثابتًا، وربما يحدث عندما يُغَلَّب مورثان (مجينان) كاملان بطريق الخطأ في غطاء

فيروسي واحد. وقد تم حدوث هذه الظاهرة، فقط، لفيروسات العائلة شبه المخاطية Paramyxoviridae (مثل الحصبة وفيروس الدمج الخلوي التنفسي وفيروس نيوكاسل وفيروس الطاعون البقري وسينداي..إلخ).

(٣٠,٥,٣) التباين (التداخل) Interference

عندما تصاب خلية أولاً بأحد الفيروسات، ثم تعقبها الإصابة بفيروس من نوع آخر (أي إصابة فوقية Superinfection)، فإن الفيروس الأول يثبط، عادة، تكاثر الفيروس الثاني. وعادة ما يتسبب تثبيط الفيروس الذي أحدث إصابة فوقية إما بوساطة الإنترفيرون Interferon، وإما بوساطة تبديل في مواقع استقبال Receptor sites الخلية أو في المسارات الأيضية اللازمة لتكاثر الفيروس المسبب للإصابة الفوقية. وعندما يحدث التداخل، فهو إما أن يقلل تكاثر كلا الفيروسين بشدة (عكسي Reciprocal)، وإما أن يقلل تكاثر فيروس واحد، فقط، (غير عكسي Non - reciprocal).

(٣٠,٥,٤) التكميل Complementation

عندما يتفاعل فيروسان داخل خلية، ويكون أحدهما (أو كلاهما) منقوصا Defective، فإن أحدهما (أو كلاهما) يتكاثر. وتكون الفيروسات الخلفة الناتجة مشابهة للفيروسات الأبوية ولا يتأثر نمطاهما المظهريان ولا نمطاهما الجينيان. ويشارك في ذلك آليات مختلفة تبعا لأنواع التكميل وهذه كما يلي:

١ - الاستحثاث بوساطة فيروس الجدري النشط (فيبروما Fibroma، سرطان ليفي) لإنزيم التقشير Uncoating enzyme والذي يكون ضروريا لتحرير Release فيروس جدري غير نشط يسبب ميكسوما Myxoma وسرطانًا مخاطيًا.

٢ - إنتاج فيروس الغدد (أدنو Adenovirus) النشط لبروتين الغطاء Coat protein والذي يستخدم بوساطة فيروس SV - 40 من نوع بارا (PARA).

٣ - المنتجات اللازمة لواحد أو للإثنين من أجل التكاثر.

(٣٠,٥,٥) التعزيز أو التقوية أو التحسين Enhancement

إن الإصابة المشتركة Coinfection لخلية بفيروسين مختلفين قد تزيد من إنتاج أحدهما. وفي مثل هذه الحالة لا يتداخل الفيروس الأول (لأنه لا ينتج إنترفيرون) مع الفيروس الثاني، كما أن أحدهما يساعد (= فيروس مساعد Helper virus) ويسمح بتكاثر الفيروس الناقص. إذن، فالتحسين يعنى التدعيم والتقوية.

(٣٠,٥,٦) نقل الجين الوسيط بالفيروس إلى الخلايا الثديية

Virus - Mediated Gene Transfer in Mammalian Cells

هل من الممكن إدخال معلومات وراثية خارجية لتكون مرتبطة بثبات في الخلايا حقيقية النواة؟

من المعروف جيدًا أن مثل هذا الوضع يحدث في الخلايا أولية النواة بسهولة. إذن فالجواب نعم. فعلى سبيل المثال، يتضمن نقل الجين في البكتيريا تقنيات التوصيل الفيروسي Viral trnasduction (بإستخدام فيروسات (لاقمات) البكتيريا والبلازميدات). والتحول Transformation والتهجين Hybridization بين الخلايا. وإذن، فإن نقل الجين معروف في البكتيريا ويحدث بالتوصيل بفيروسات البكتيريا وغيرها ومع ذلك، فإن التوصيل للخلايا الثديية يمكن أن يحدث بوساطة فيروس حيواني كي يعمل كعامل توصيل Transducing agent . فعلى سبيل المثال، يدخل ح ن د من خلية الفأر والذي يلعب ضمن الدقيقة الفيروسية لفيروس بوليوما الكاذب Pseudopolyoma إلى أنوية الخلايا المستقبلة.Recipient cells دون أن يسبب فقدا للتكامل الفيزيائي للخلية المستقبلة. وفي نفس الوقت، فقد إستخدم فاج لامدا (λ) بنجاح في التوصيل إلى الخلايا البشرية. كما أمكن نقل جين gal^+ (تمثيل الجالاكتوز) من خلايا البكتيريا القولونية *E. coli* إلى الخلايا البشرية السالبة لجين الجالاكتوز gal من مرضى سكر الجالاكتوز المتواجد في الدم Galactosemia وذلك بوساطة لاقم بكتيريا.

(٣٠,٦) عمل الخرائط الوراثية Genetic Mapping :

إن موقع الجين (الموروثة = Gene) على طول الكروموسوم يعبر عنه بالخريطة الوراثية Genetic map للكروموسوم. وتشير الخريطة إلى ترتيب الجينات على طول الكروموسوم. كما تشير، أيضًا، إلى المسافة النسبية التي تفصل مختلف الجينات.

وتبعا لذلك، فإن الجينات وثيقة الارتباط Closely linked سوف تكون جينات متجاورة على حين أن تلك الجينات التي تنفصل عن بعضها بمسافات واسعة سوف يكون ارتباطها معًا ضعيفًا إن لم ينعدم.

وقد أمكن التوصل لعمل خرائط وراثية لكروموسومات حقيقية النواة وأولية النواة خاصة لـ *E. coli*. ومع ذلك، فإن تخريط الجينات Gene mapping يعد أكثر سهولة ومجزيًا. فمن المعروف أن كل فيروس يمتلك كروموسومًا واحدًا. لذا فإن كل جيناته تبدو في مجموعة إرتباط Linkage group واحدة. وحيث إن الطبيعة الجزيئية للكروموسوم الفيروسي معروفة تمامًا، على عكس الغموض والصعوبة التي تكتنف تنظيم كروموسوم حقيقيات النواة، لذا، فإن النتائج الوراثية Genetic data، في بعض الحالات، يمكن ربطها بالأحداث الجزيئية. وأخيرًا، فإن كل كروموسوم يمتلك عددًا قليلا من الجينات، لهذا فإن ترتيب كل الجينات على ا الكروموسم أو معظمها يمكن رؤيته فعليا. ومع ذلك، فإن الوراثة الفيروسية تعد مهمة خاصة في الطب والصحة العامة والثروة الحيوانية وللاقتصاد الزراعي والصناعات التخميرية وفي الحرب الجرثومية.

(٣٠,٦,١) أهمية عمل الخريطة الوراثية Importance of Gene Mapping:

١ - توفر الخريطة الوراثية لأي فيروس ملخصًا عن معلوماته الوراثية.

٢ - تسهل من نظرة سريعة Quick glance الإلمام بأنواع المعلومات الوراثية التي يمتلكها الفيروس.

٣ - تعني المسافات غير الموضحة على الخريطة الوراثية أن هذه الأماكن ووظائفها الوراثية لم يتم التعرف عليها بعد.

٤ - تعطي فكرة عما إذا كانت الجينات الفيروسية مرتبة في نظام دائري Circular أو أنها طولية Linear وذات نهايتين.

٥ - إن كل جين تم تخريطه Mapped يمكن التعرف عليه بموقعه في الكروموسوم.

٦ - يمكن، غالبًا، أن تعطي فكرة عن نوع الطفرة Mutation التي حدثت في الكروموسوم. إذ إن الحذف الكبير Large deletion الذي يمكنه أن يزيل عدة جينات من الكروموسوم يظهر نتائج مختلفة في تجارب التخريط مقارنة بالطفرة النقطية Point mutation التي تؤثر على نيوكليوتيدة مفردة.

٧ - تساعد في التفريق بين الطفرات التي تؤثر على جين واحد والطفرات التي تؤثر على جينات مختلفة. فلو افترضنا أنه، عقب التطفير Mutagenesis، وباستخدام غربلة Screening مناسبة، أمكن الحصول على ١١ سلالة مختلفة من الفيروس ولكن يبدو أنها كلها ذات نمط مظهري Phenotype واحد. فهل كل هذه الـ ١١ سلالة تحمل طفرات تؤثر على نفس الجين، أم أن أكثر من جين تأثر بنفس هذا النمط المظهري؟ ويمكن للمرء أن يجيب عن هذا السؤال بأن يحدد موضع كل طفرة على الخريطة الوراثية، فهذه الطفرات التي يمكن أن تظهر بأنها تشغل نفس الموضع أو المكان على الكروموسوم يمكن تمييزها بسهولة عن تلك الطفرات التي تظهر على مواضع بعيدة عن بعضها بعضًا على الكروموسوم. بناء عليه، فإذا وجد أن كل السلالات تحمل طفرات عند ثلاثة مواضع متميزة، فإننا يمكن أن نفترض بأنه يوجد، على الأقل، ثلاثة جينات ذات أهمية في دراسة تأثيرها على إنتاج النمط المظهري.

٨ - يمكن أن تفسر الخريطة ما إذا كانت أربع طفرات، على سبيل المثال، تؤثر على النمط المظهري إنما ترجع لجين مفرد أو أن الكروموسوم مرتب Organized هكذا بحيث إن عدة جينات تكون متكتلة Clustered في جزء صغير من الكروموسوم.

(٣٠,٦,٢) تعريف بعض المصطلحات Definition of some Terminology

أ - الجين (المورثة) Gene : يتكون الجين من تتابعات من النيوكليوتيدات Asequence of nucleotides ، والذي عندما ينسخ Transcribed ، سوف ينتج حامضًا نوويًا نشطًا ، وهو دائمًا وأبدًا ح ن ر مفرد الخيط Single - stranded RNA. وكل جين أو مجموعة من الجينات توصّف نوعيًا لبروتين واحد والذي ، بدوره ، يظهر الصفة الوراثية.

ب - العلامات الوراثية Genetic Markers : هي طفرات Mutations سوف تعلم Mark وجود جين. وهذه العلامة ليست مرادفا للجين نفسه.

جـ - الموقع Locus : يعني موقع الجين وجود جزء فيزيائي للجين على الكروموسوم.

(٣٠,٦,٣) كيف يمكن تخريط المورث (المجين) الفيروسي؟

How Virus Genome is Mapped?

يتكون تخريط المورثات (المجينات = Genomes) الفيروسية عن طريق تحديد التتابعات النيوكليوتيدية في مواقع الطفرات Mutant sites والجينات ووظائف الجينات على المورث (المجين).

والطور النهائي في هذه العملية هو توضيح التركيب الوراثي للمورث في معنى من التتابعات النيوكليوتيدية Nucleotide sequence ويعد تشييد الخرائط الوراثية مهمًا جدًا في فهمنا لتكاثر الفيروس كما أنه يفيد ، بصفة خاصة ، في توضيح الآليات التي ينظم بها التعبير عن الوظائف الفيروسية.

وتوجد عدة طرق يمكن بها بناء الخرائط الوراثية للفيروسات وهذه تشمل :

١ - خرائط الحذف Delection maps في الفاجات.

٢ - خرائط باكتامايسين Pactamycin maps في فيروس شلل الأطفال.

٣ - تحليلات الارتباط لمعاودات الارتباط Linkage analysis of recombinants.

٤ - التخريط الوراثي الفيزيائي باستخدام الإنزيمات النووية تحديدية القطع الداخلي Physical mapping of restriction endonucleases.

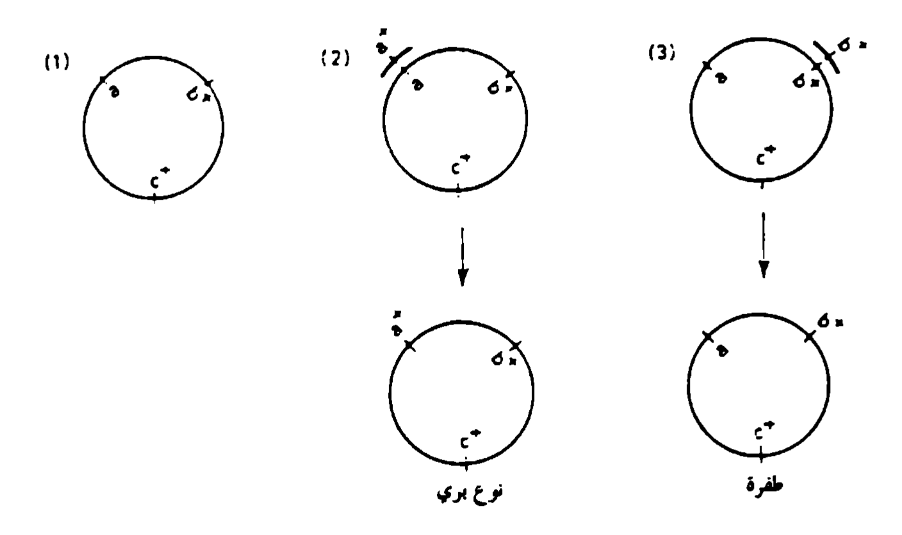
وسوف نعتبر الطريقتين الأخيرتين.

(٣٠,٦,٣,١) التخريط الوراثي بتحليل ارتباطات معاودة الارتباط

Genetic Mapping by Linkage Analysis of Recombination

ويعتمد هذا على تكرار معاودة الارتباط بين أزواج من الطفرات الفيروسية عندما تهجن Crossed معًا تحت الظروف القياسية. وهذه الطريقة مبنية على حقيقة أن تكرار معاودات الارتباط إن هي إلا وظيفة لموضع الطفرتين على المورث. فكلما كانت العلامتان أقرب لبعضهما، كانت نسبة خلفة معاودات الارتباط أقل. فإذا فرضنا أن المتبادلات الوراثية Genetic exchanges (العلامات) تحدث بتكرارات متقاربة عند كل النقط على طول الكروموسوم، فإن هذا يزيد للترجيح بأنهما مفصولان بتبادل وراثي. فمثلا، إذا افترضنا أن a و b هما موقعان على الطرفين المتقابلين لكروموسوم. وفي مثل هذه الحالة، فإن أي تبادل في موضع داخلي على كروموسوم سوف يكون له تأثير احضار العلامات في توليفات جديدة New combinations. وبهذا، فإن معدل تكرار معاودات الارتباط بين العلامات سوف يكون كبيرًا. بناء عليه، فإن معدلاً كبيرًا نسبيًا لمعدلات معاودة الارتباط بين العلامات يفترض أن العلامات تكون بعيدة عن بعضها بعضًا. وعلى النقيض، فإذا كان موقعان آخران c و d، يمكن أن يقعا على اليمين بجوار بعضهما على الكروموسوم، ففي هذه الحالة، سوف تكون الاحتمالية قليلة بحيث إن أي تبادل سوف يحدث في الفترة الفاصلة بين العلامتين. أي أن معدل تكرارات معاودة الارتباط التي حصل عليها لتوافقات علامات مختلفة (مثال: تهجينات + + adx وتهجينات + + bdx)، فإنه يمكن ترتيب العلامات الأربعة في نظام طولي مع مسافاتها النسبية مفصولة عن بعضها بما يناظر مسافات معاودة الارتباط بينها ومن ثم، تنتج الخريطة الوراثية. وتكون هذه الطريقة الأساس لعمل خريطة بوساطة معاودات الارتباط ليس، فقط، في الفيروسات ولكن في كل الكائنات، أيضًا.

وقد استخدمت بوساطة تحليلات الارتباط على نطاق واسع بعمل تهجينات بين عاملين أو ثلاثة سواء في الفيروسات البكتيرية (T7, T4) أو الحيوانية أو فيروس أدنو نوع -٥ أو فيروس القوباء البسيط نوع -١ أو المورثات (المجينات) المفردة لـ ح ن د s.s - RNA genomes في فيروسات شلل الأطفال والحمى القلاعية (FMDV) (الشكل رقم ٨١).



الشكل رقم (٨١). إنقاذ العلامة Marker rescue بوساطة قطع ح ن د.تصاب الخلايا بجزيئات ح ن د كاملة لمورث (مجين = Genome) به طفرة حساسة للحرارة ts عند موقع a في غياب (١) وفي وجود (٢و٣) قطعًا منتخبة من النوع البري. ويمكن، فقط، للقطعة التي تحمل علامة a^+ التي تشير لموقع a من مورث الطفرة أن تؤدي لتكوين معاودات ارتباط من النوع البري.

(٢,٣,٦,٣٠) عمل الخرائط فيزيائيا Physical Mapping:

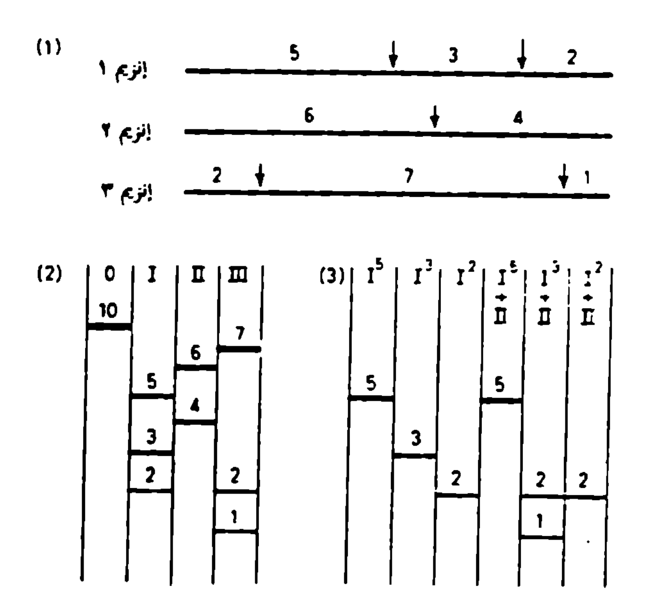
تعد هذه الطريقة مفيدة للكثير من فيروسات ح ن د DNA viruses وهي الأكثرها مباشرة. ويفيد تخريط البروتين لمواقع داخل الجين، ويمكن إجراؤها بقياس طول سلاسل عديد الببتيد الناتجة عن إدخال طفرات منهية Teminator mutations أي طفرات بلا معنى Non-sense. والطريقة الأفضل لعمل تخريط للحامض النووي تكون عن طريق عمل تهجين لـ ح ن د من سلالات تختلف في اثنين أو أكثر من الحذوفات Deletions أو الإضافات Insertions، عندما تفتقر سلالتان للتناظر Homology، فإن ح ن د غير المزدوج Unpaired سوف يكون تشبيكا شجيريا Bush كما أن طول المنطقة المزدوجة Paired بين التشبيكات الشجيرية Bushes يمكن تقديرها بدقة.

ومع ذلك، فإن التقنية الأكثر أهمية في التخريط الفيزيائي هي باستخدام قسم من إنزيمات قطع ح ن د DNA cutting enzymes، وهي الإنزيمات النووية داخلية القطع التحديدي Restriction endonucleases، والتي تشطر جزيئات ح ن د عند مواقع نوعية لتكون قطعا. ويتعرف كل إنزيم تحديدي Restriction enzyme ويقطع تتابعا نوعيا نحو ٤ - ٦ من قواعد النيوكليوتيدات. فإنزيم إكور آر -١ (ECO RI) يقطع بين A, G- وهند -٣ (Hind - III) يقطع بين A: A، وهيي -٢ (Hae II) يقطع بين البيميريدينات (سايتوسين وثايمين) المجاورة للبيورينات (جوانين وأدينين A: G)، أما هبا -١ (Hpa I) فيقطع بين A : T وهبا -٢ (Hpa II) فيقطع بين C: C.

ويحاول التخريط الوراثي أن يرتب القطع التي حصل عليها من هضم الإنزيمات التحديدية، في تتابع كما تحدث في الطبيعة. ويمكن أن يتم عمل ذلك بطرق مختلفة، منها الهضم التتابعي Sequential digestion والتحليل وهما أكثر الطرق شيوعا. فإذا أخذنا في الاعتبار أن جزيء ح ن د وزنه الجزيئي ١٠×١٠٦ والذي ينقطع إلى ثلاث قطع من الوزن الجزيئي كما هو مبين: ٤×١٠٦ و ٦×١٠٦ و ٢×١٠٦ و ٧×١٠٦ بواسطة ثلاثة (III) إنزيمات. فإن القطع التي سوف تنتج عن إنزيم I في مهضوم Digest ما يمكن تعريفها وفصلها بالفصل الكهربائي خلال الجل Gel أو الأجاروز Agarose. والقطع الناتج عن إنزيم I سوف توجد في أحد هذه الترتيبات ٥ ← ٣ ← ٢ و ٥ ← ٢ ← ٣ و ٢ ← ٥ ← ٣. ويمكن إيجاد حل لذلك عن طريق القطع؛ عزل وقطع كل منها بوساطة إنزيم II. ويبين الشكل رقم (٨٢) أن القطعة ٣×١٠٦ تقطع لتعطي قطعتين وزنهما الجزيئي ١×١٠٦ و ٢×١٠٦.

ولذا، فإن القطع الوحيد الذي صنع بإنزيم II يكون عند موقع في القطعة ٣×١٠٦، مما يؤكد أن هذه هي القطعة المركزية وأن الترتيب هو ٥ ← ٣ ← ٢. وبالمثل، فإننا يمكن أن نجد أن القطعة ٣×١٠٦ الناتجة عن هضم إنزيم III تحتوي على موقع مفرد لإنزيم II معطيا الترتيب كما يلي ٣ ← ٢ ← ١. كما أن الهضم الإضافي لقطع نوعية وإدخال مزيد من إنزيمات القطع التحديدي سوف يعطي خريطة تفصيلية مثل التي

عملها إكهارت Echart عام ١٩٧٧م لفيروس SV-40، ولوريا وزملاؤه Lauria *et al.*, عام ١٩٧٨م لفيروس أدنو.



الشكل رقم (٨٢). التخريـــط الفيزيـــائي Physical mapping لجزيئـــات ح ن د DNA (١) جـــزيء ح ن د يظهر مواقع الانشـــطار ↓ (١) بوســـاطة الإنزيمـــات الثـــلاث التحديديـــة المختلفة.(٢) الفصـل الكهربائي على الجـــل لجـــزيء كـــامل (O) وهضـــم ح ن د بالإنزيم التحديدي. وتهاجر الجزيئات من القمة إلى قاع الجل حيـــث تكـــون القطـــع الأصغر هي الأسـرع في الهجرة. (٣) الفصـل الكهربائي لقطع ح ن د المفصولة مـــن هضم بالإنزيم I وبعدئذ، قطعت بهضم ثان بإنزيم II. وتشير الأرقام للأوزان الجزيئيـــة النسبية لقطع ح ن د.

(٣٠,٦,٤) الفيروسات وتناول الجين Viruses and Gene Manipulation

يمكـن - الآن - تنـاول جينـات الفيروسـات بسـهولة مـن خـلال إسـتخدام الإنزيمات النووية داخلية القطع التحديدي Restriction endonucleases. فالمثال المبين

يوضح الفعل الدقيق للإنزيم النووي الداخلي ECO R1 والذي يشطر ح ن د نوعيا بين A, G. وبناء عليه، إذا انشطرت جزيئات ح ن د إلى قطع ذات ذيول من خيوط مفردة مكملة فإنها يمكن أن تعاود الارتباط. ومثل هذا الخليط من معاودات الارتباط إذا ما سمح لها بأن تزدوج Annealing وفي وجود إنزيم اللحام Ligase، فإن مختلف معاودات الارتباط المختلفة تتكون.

والتحول Transformation هو إدخال ح ن د غريب في البكتيريا. ومثل ح ن د هذا المضاف يمكن أن يفقد من الخلية إذا ما فشل في أن يتكاثر. ولحل هذه المشكلة، فإن قطعة ح ن د تغرز في ناقل Vector (أو عربة تنسيل Cloning vehicle) والذي هو ببساطة جزيء ح ن د قادر على التكاثر الذاتي Autonomous replication. والبلازميدات البكتيرية والفاجات (اللاقمات)لامدا هما أكثر العربات Vehicles الشائعة الاستخدام. ولفاج لامدا (λ) ميزتان باعتباره ناقلا. أولها، أن هجين ح ن د يمكن أن يحضر بكميات كبيرة حيث إن كل خلية بكتيرية تحتوي على عدة مئات من مكونات دقائق الفاج، وباستخدام طفرات لامدا التي يمكن أن تجعل تحلل العائل منقوصا Defective من الممكن زيادة محصول الفاج ١٠ مرات، هذا بالإضافة إلى أن الفاج يبقى في الخلية البكتيرية إلى أن تتحلل صناعيًا. ثانيتهما، أن المعلومات التفصيلية عن مورث (مجين = Genome) λ تعد مفيدة، بصفة خاصة، من حيث كونها ممكنة تفيد في بناء طفرات من شأنها أن تزيد نسخ ح ن د الغريب. ومع ذلك، فإن وجود ٥ مواضع هدف Target sites لإنزيم EcoR1 لا تعد ميزة لفاج لامدا كعربة تنسيل. وهذه المناطق هي D, C, B, A, F والتي من بينها منطقتا C,B من المورث واللتين لا ضرورة لهما في النمو التحللي Lytic growth. وبناء عليه، فإن الهضم التحديدي لفاج لامدا سوف يعطي مورثا به مناطق FED C B A. فإذا أزيلت المنطقتين ٤ و ٥ من الجزيء الرابط Joining molecule، فإن طفرة سوف تتكون محذوفا منها نحو ٢٥٪ تقريبًا والتي يمكن أن تعطي روائق عند عمل عدوى عابرة Transfection.

(٣٠,٦,٥) الفيروسات والهندسة الوراثية Viruses and Genetic Engineering

إن من أهم التطورات العلمية التي أسهمت فيها دراسة الفيروسات هي التقدم السريع في مجال الهندسة الوراثية. وقد ساعد في ذلك دراسة وراثة فيروسات مثل فاج البكتيريا لامدا وفاج البكتيريا ت٤ (T4) وفاج البكتيريا ميو، وكذلك فيروسات su 40 وبوليوما وبابيللوما وفاكسينيا والفيروسات العكسية. كما استخدمت بعض الفيروسات السابقة، وفيروس باكيولو baculo virus الذي يصيب الحشرات، ناقلات أو عربات لحمل الجينات وزرعها في الخلايا. وساهمت الترابطات التي عملت مع بعض البلازميدات في عمل هندسة وراثية لزراعة الجين. علاوة على ذلك، فقد نجحت تجارب إستخدام فيروسات نباتية مثل تبرقش القرنبيط وفيروسات جيميني في زراعة جينات مقاومة الأمراض الفيروسية النباتية. ومما لا شك فيه أن هذا الموضوع يحتاج إلى إستفاضة كبيرة.

الفصل الحادي والثلاثون

أصل الفيروسات وتطورها
Origin and Evolution of Viruses

لا أحد من علماء الدنيا - سوى الخالق سبحانه وتعالى - يعلم كيف نشأت الفيروسات وكيف تطورت. وعلى الرغم من أن العديد من المعلومات ذات الصلة متاحة خاصة من الدراسات التي أجريت على تركيب الفيروسات وتكاثرها إلا أن أصل الفيروسات وتطورها لا يزالان مجرد توقع.

ولا يوجد سبب لنفترض أن كل الفيروسات التي تصيب مختلف مجموعات الكائنات الحية أو حتى تلك التي تصيب مجموعة واحدة في أنها قد ظهرت ونشأت بنفس الطريقة. علاوة على ذلك، فإنه من المحتمل أن الفيروسات التي ظهرت في مجموعة كبرى من الكائنات الحية قد توجد - الآن - تشابهات Similarities وثيقة واضحة في الشكل والتركيب الكيميائي لفيروسات النبات والحيوان والحشرات وفيروسات الأحياء أولية النواة Prokaryotes وكذلك، أيضا، في الطريقة التي تتكاثر بها في الخلايا كما اتضح من الفصول المبكرة من هذا الكتاب. ولكننا عندما ننظر إلى أغلب الاختلافات التي توجد بين فيروسات النبات وفيروسات الحيوان، فإننا نجد أنها من المحتمل أن تعكس إختلافات في الطريقة التي يتفاعل بها الكائن العائل ضد الإصابة. ففي الحشرات متباينة الأجنحة Heteroptera وفي البق المدرع (Pentatomids) shield bugs، توجد أفراد تتغذى إما بالنباتات وإما بالثدييات. بناء عليه، فإنه، على فترة طويلة من الزمن، تمكنت الناقلات من مفصليات الأرجل Arthropod vectors من

عبور الحاجز Bridging بين النباتات والفقاريات ومن ثم، تطور الانتشار الواسع لهذه الفيروسات في أي من المجموعتين، أو في مفصليات الأرجل نفسها.

ومن الجدير بالذكر أن كل صور الحياة تتكون، أساسًا، من قسمين من العناصر الكيميائية: تلك التي تستخدم في تخزين المعلومات Storage of information وتلك التي تستخدم في الوظائف Functioning. وفي كل الكائنات، فإن المعلومات تخزن على شكل تتابعات نيوكليوتيدية من الحموض النووية Nucleic acids: ح ن د (دنا = DNA) لمعظم أشكال الحياة، و ح ن ر (رنا =RNA) لبعض الفيروسات وتحدث الوظائف المشفر لها بوساطة هذه التتابعات عن طريق البروتينات بصفة غالبة. وتتحد خواص هذه البروتينات بوساطة الشفرة الوراثية Genetic code الموحدة والعامة لكل أنواع الحياة على الكون بما فيها الفيروسات. والفيروسات، بإعتبارها أصغر الطفيليات الداخل خلوية الإجبارية، فإنها تمتلك طاقة محدودة لتخزين المعلومات، إلا أنها من بين أغلب أشكال الحياة كفاءة واقتصادًا. فالفيروسات تشفر Code المعلومات، فقط، لتلك الوظائف التي يمكن أن تأخذها بالضبط من عوائلها، لهذا، فإنها تحتوي على كمية قليلة من النيوكليوتيدات في مورثها (مجينها = Genome). وبعض الفيروسات مثل فيروسات هيبادنا Hepadnaviruses والفيروسات العكسية Retroviruses وفيروس SV-40، على سبيل المثال، تستخدم نفس النيوكليوتيدات لتشفر لأكثر من نوع من البروتين. وذلك عن طريق استخدام إطارات قراءة Reading frames، على حين أن فيروسات أخرى تقص ح ن ر الرسول m RNA splicing لزيادة عدد البروتينات المختلفة التي يمكن أ ن تصنعها.

ومما سبقت دراسته، نعلم أن وظائف الجين للفيروسات تقع في إحدى مجموعتين:

١ - تلك التي تستخدم للتكاثر Replication أو لتقوم بطور معين Particular stage في دورة الحياة Life cycle (مثل الكمون Latency وتولد التحلل Lysogeny).

٢ - تلك التي تستخدم لتعليب Package أو تجميع Assemble المعلومات الوراثية في دقائق فيروسية.

ويوجد مورث في تركيب الدقيقة الفيروسية الذي يحتاج إلى متطلبين متنافسين هما: صدفة (غطاء Capsid) Shell للفيروس والتي يجب أن تكون ثابتة بدرجة تكفي لمقاومة الأذى البيئي الذي قد يتعرض له الفيروس خارج الخلية؛ مثل الحرارة والمذيبات والإنزيمات والتجفيف. وثانيهما أن الفيروس لا بد أن يكون قادرا، عند الدخول إلى الخلية، على التفكك Disassembly السريع وأن تقرأ بالترتيب المعلومات الوراثية المخزنة في مورثه (مجينه Genome).

وعلى الرغم من القيود المفروضة على حجم الفيروسات وتركيبها وهكذا إلا أنها قد حلت كل هذه المشكلات وبهذا بقيت!!.

إلى هنا، ويجب أن نتساءل: لكن كيف نشأت الفيروسات؟ وما تلك القوى التي أدت لظهور فيروسات جديدة؟ وما هي الضغوط الانتخابية التي أدت إلى ظهور أمراض جديدة؟ وأخيرًا، كيف تتغير الفيروسات وكيف تتطور؟.

وكما سبق القول، فإن الأدلة على نشأة الفيروسات وأصلها محدودة إن وجدت أصلا. إذ إن الفيروسات لم تترك أية سجلات من الأحافير Fossils. والشيء الثاني هو إن أقدم الفيروسات لم تكتشف إلا منذ ٨٠ إلى مائة سنة مضت، ولا يمكن اعتبار هذا مدى زمنيًا للتطور حتى في وجود زمن جيل قصير ومعدل طفرة عالٍ. من هنا، فإننا يجب أن نستخدم الفيروسات الموجودة هذه الأيام وأن نقارن العائلات ذات القرابة وأبناء العمومة الأبعدين. (**ملحوظة**: يرجع تاريخ الفيروسات ونشأتها إلى فجر الحياة من ملايين السنين، وقد سجل المصريون القدماء أمراضًا فيروسية منذ آلاف السنين.!!)

(٣١,١) نظريات أصل الفيروسات Theories of viruses origin

قد نحدد أصل الفيروس الجديد بأنه الوقت الذي يصبح تكاثره وتطوره مستقلين عن الجزيئات التي كانت قد اشتقت منه. فعندما يكتسب العنصر الوراثي

المعلومات اللازمة لمضاعفة نفسه ولتحديد وجهته Destiny الخاصة، فعندئذ، يكون قد حقق وضعًا جديدًا وشكلا مستقلا للحياة.

وقد اقترحت ٣ نظريات لأصل الفيروسات هي:

(٣١,١,١) النظرية التقدمية Progressive Theory

إن الفيروسات خَلَف لأشكال بدائية للحياة قبل الخلوية

(Descendants of primitive precellular life froms)

إن التطفل الإجباري عالي التكشف للفيروسات، كما نعرفه الآن، لا يوفر دليلا على أنها تمثل أشكالا بدائية للحياة قبل الخلوية. فهي تستخدم نفس الشفرة الوراثية Genetic code مثل الكائنات الحية وهي معتمدة في تصنيع بروتينها على الريبوزومات و ح ن ر الناقل t RNA والإنزيمات المرتبطة التي توفرها خلية العائل.

وفي توقع لأصل الشفرة الوراثية، فقد اقترح بأن الشفرة الوراثية البدائية كانت شفرة ثنائية Doublet code تخصص لـ ١٦ حامضًا أمينيًا في البروتينات المبكرة. وبتطور الشفرة إلى شفرة ثلاثية Triblet code، فإن أربعة أحماض أمينية إضافية (ميثيونين Methionine وتربتوفان Tryptophan وتيروسين Tyrosine وسيرين Serine أو أرجينين Arginine) أصبحت تدخل في تركيب البروتينات. فمثلا، يعد التربتوفان أحد الأحماض الأمينية التي توجد بمعدل منخفض في البروتينات والذي يوجد بهذه النسب المئوية التقريبية كالتالي. البروتين البكتيري ٠,٨، بروتين الخميرة ١,٤، بروتين الطحالب ٠,٢، بروتين سيتوبلازم ورقة الذرة ٢,٣. على حين وجدت هذه النسبة المئوية في غطاء ٦ فيروسات نباتية بمتوسط ١,٢.

وبالمثل، فإنه لا يوجد شيء غير عادي في تركيب القواعد النيتروجينة أو الصفات الكيميائية الأخرى للأحماض النووية الفيروسية.

بناء عليه، فإن الفيروسات هي خلف أو منحدرة من كائنات قديمة سابقة للخلوية Precellular organisms والتي أصبحت متطفلة على أول الكائنات الحية الخلوية.

ويتطور كائنات أخرى ونشوئها، تطورت الفيروسات ذاتها. فعلى سبيل المثال، قد يكون البشر قد أصيبوا بدون أذى بفيروس القوباء البسيط Herpes simplex الكامن Latent طوال حياتهم، كما أن القرود قد تكون أصيبت، أيضًا، بنفس النمط بنوع آخر من الفيروسات القوبائية: وهذه الأنواع الفيروسية ربما يكون لها أصل مشترك. ومع ذلك، فإن الإنسان قد أصيب بالصدفة بفيروس القرود القوبائي والمسمى فيروس - ب (Monkey herpes B virus) الذي لم يكن بينهما أية خبرة تطورية، لذا تكون الإصابة، عادة، قاتلة.

ومن المحتمل أن الفيروسات تكون قد ظهرت بعد ظهور الخلايا البدائية، ربما كنواتج تحللية متطفلة Parasitic degradation products، وأن المرض المعدي الذي تسببه قد وفر ضغوطا انتخابية على التطور في المحيط الأحيائي Biosphere. علاوة على ذلك، فإن الموجودات الحديثة بأن كلا من فيروسات ح ن د (دنا = DNA) وفيروسات ح ن ر (رنا = RNA) يمكنهما أن يصبحا متكاملين (ملتحمين Integrated) في الخلايا، جعل من الممكن القول بأن تلك الفيروسات ربما تكون قد أدت دورًا مهمًا في اكتساب Acquisition كميات متزايدة من المادة الوراثية عن طريق الخلايا البدائية أثناء تطور الحيوانات والنباتات.

(٣١,١,٢) النظرية التراجعية Regressive (Retrograde) theory

إن تعقيد بعض فيروسات ح ن د DNA الكبيرة جدًا والتي تحتوي على مئات من الجينات (المورثات Genes) وتطوير عمليات تكشفية، يدعم التطور التراجعي للفيروسات من خلايا حية حرة.

وقد عُدَّ أن الفيروسات ربما تكون قد نشأت من بعض مكونات خلوية Cell constituents هربت من آليات التحكم Control mechanisms وأصبحت وحدات ذاتية التكاثر Self-replicating entities. وقد اقترح بأن مثل هذا المكون قد هرب من آلية التحكم في نوع الخلية التي يوجد فيها، عادة. كما اقترح كثيرًا بأن مكونًا عاديًا في كائن ما ربما يكون قد تكشف إلى فيروس عندما دخل إلى خلايا لنوع آخر من الكائنات. فمثلا: ربما تكون بعض الفيروسات النباتية قد ظهرت من مكون عادي من الحشرات التي تتغذى بالنبات.

وحيث من الواضح أن الفيروسات تحمل معلومات وراثية، فقد اقترح أن الفيروسات قد ظهرت كجينات من العائل Host genes هربت من آلية التحكم للخلية وأمكنها أن تتكاثر مستقلة عن الانقسام الخلوي. إن العلاقة الوثيقة الموجودة بين ح ن د (DNA) لبعض الفيروسات البكتيرية وبين مورث (مجين Genome) البكتيريا العائلة يعد أقوى دليل يعضد وجهة النظر هذه. إذ يمكن لـ ح ن د (DNA) للفاجات المعتدلة Temperate phages أن يبقى على ارتباط وثيق مع ح ن د البكتيري، يتكاثر معه خطوة خطوة، ولا يسبب أي ضرر للخلية. ويؤدي الاستحثاث Induction إلى التكاثر غير المقيد Unristricted multiplication لـ ح ن د الفيروسي إلى تكوين دقائق فيروسية وموتا للعائل. ومن المعروف أنه يوجد العديد من العناصر الوراثية الإضافية (الكمالية) في البكتيريا مثل العوامل المولدة للبكتيريوسين Bacteriocinogenic factors، وعوامل الخصوبة Fertility factors وعوامل المقاومة Resistance factors التي تضفي مقاومة ضد أدوية معينة كلها يمكن أن تتكاثر مستقلة في الخلية البكتيرية. وبعض هذه العوامل قد تلتحم Integrate مع بعضها بعضًا أو مع ح ن د (DNA) البكتيري. وقد اقترح كل من لوريا Lauria ودارنيل Darnell عام ١٩٦٧م بأن متنوعًا واسعًا من عناصر النقل الوراثي Genetic transfer elements ربما يكون قد تطور عن الخلايا أولية النواة Prokaryotic cells وأن الفيروسات البكتيرية المحتوية على ح ن د (DNA) أحد مثل هذه المجموعات (قارن بين الفاجات والبلازميدات).

وفي عام ١٩٦٢من وضع ليندجرين Lindgren إطارا للخطوات المحتملة التي ربما يكون قد نشأ بها فاج بكتيريا من ح ن د لفاج أولي Prophage DNA. وقد عُدّ أن الفاج الأولي قد نشأ كقطعة غريبة من ح ن د البكتيري الغريب والذي دخل بالصدفة Accidentally إلى الخلية، وأنه، في الأطوار المبكرة، كان ينقسم تزامنيا Synchronously مع ح ن د البكتيري. وفي الخطوة التالية، تطور الأمر وأصبح الفاج الأولي قادرًا على التكاثر خارج هذا التزامن مع ح ن د البكتيري، وذلك باستخدام مخزون نيوكليوتيدات العائل، ومسببًا تغيرات معينة في أيض Metabolism العائل. وفي طور متأخر، حدث

تكشف لبروتين الغطاء الواقي Protective protein coat والبروتينات الأخرى المساعدة Accessory التي سمحت بالبقاء الفعال للحامض النووي خارج العائل وبمعاودة الإصابة Infection الكفء لخلايا جديدة من العائل.

ومن الجدير بالذكر أن خلايا حقيقيات النواة Eukaryotes تحتوي على عدد كبير ومتنوع من العضيات والدقائق التي تشتمل على ح ن د وظيفي مثل الميتوكوندريا(المقتدرات) والبلاستيدات، فمن الممكن أن تكون فيروسات ح ن د في الخلايا حقيقية النواة قد نشأت من ح ن د عادي من مثل هذه العضيات أكثر من كونها نشأت من ح ن د النووي.

كما يعتقد بأن ح ن د من فيروسات معينة يسبب أوراما في خلايا الثدييات عندما يدخل (يلتحم) ضمن مورث (مجين Genome) خلية العائل.

ومن التأثيرات المثيرة للإصابات الفيروسية، أيضًا، المثابرة Persistence لعدة سنوات لأعراض مرض في غياب وجود فيروس يمكن الاستدلال عليه، إذ ربما يكون ذلك راجعا إلى مثل هذا الالتحام. وقد قدم ليدو وهوارت Ledoux & Huart دليلا يقترح أن ح ن د للبكتيريا نوع *Micrococcus lysodeikticus* يرتبط مع الحمض النووي ويتكاثر معه. كما يوجد دليل آخر بأن ح ن د البكتيريا نوع *Agrobacterium tumifaciens* قد يرتبط مع ح ن د لخلايا نبات الطماطم العائل (أنكروسترون عام ١٩٦٨م Anker & Stroun). ومن الغريب أن النساء صحيحات الجسم واللاتي لديهن سرطان ثدي Breast cancer يفرزن في اللبن دقائق شبه فيروسية Virus - like particles.

وهذا النظام الأخير لا يتناسب مع طبيعة الفيروسات ذات ح ن ر RNA viruses، لأنها تتوقف على ح ن ر المعتمد في تصنيعه على ح ن ر RNA - dependent RNA synthesis من أجل تكاثرها. إذ إنه لا يعرف حتى الآن أن مثل هذا يحدث في الخلايا العادية. ومع ذلك، فقد كشف عن نشاط إنزيم بلمرة ح ن ر المعتمد على ح ن د DNA - dependent - RNA polymerase من أجل تكاثرها. إذ إنه لا يعرف حتى الآن أن مثل هذا يحدث في الخلايا العادية. ومع ذلك، فقد كشف عن نشاط إنزيم

البكتيريا نوع M. lysodeikticus (ناكوموتو وفايز عام ١٩٦٢م Nakamoto & Weiss) ونوع *Azotobacter vinelandii* (كراكو وأوكوا عام ١٩٦٣م Krakow & Ochoa) لتصنيع ح ن ر الخلوي. إذ يمكن أن تكون فيروسات ح ن ر قد تطورت من قطع من ح ن ر الرسول m RNA الخاص بخلية العائل والتي قد طورت، إلى حد ما، قدرة للتكاثر الذاتي ولتصنيع بروتين الغطاء.

وقد اقترح، أيضًا، أن الريبوزومات تشابه فيروسات ح ن ر الصغيرة. والريبوزومات أكثر تعقيدًا في ح ن ر وفي بروتيناتها من الفيروسات التي في نفس حجمها.

(٣,١,٣١) نظرية الجزيئات ذاتية التكاثر Self - Replicating Molecules

هناك تساؤل يطرح نفسه: ما المطلوب لخلق Creation جزيء ذاتي التكاثر Self-replicating يمكنه أن يتطور مستقلا على مدى الزمن؟.

فمن المعلوم أن كل الكائنات الحية يجب أن تحتوي على الجزيئات التي تخزن فيها معلوماتها (ح ن د DNA أو ح ن ر RNA). وهي تعمل ذلك بعملية مرتبة حيث تبدأ Initiates عند موقع محدد على الجزيئات المتبلمرة Polymers وتنتهي عندما تكون كل النيوكليوتيدات قد تضاعفت بالتتابع المضبوط. وقد سمي موقع البدء بأصل التكاثر Origin of replication، أي أن كل جزيء ذاتي التكاثر لا بد أن يكون لديه موقع واحد لأصل التكاثر. ويتم التعرف Recognition على ذلك الموضع بوساطة واحد أو أكثر من البروتينات التي تكون وظيفتها هي بدء بلمرة Polymerization النيوكليوتيدات في الجزيء المكمل. ويمكن التعرف على حصول أي تتابع نيوكليوتيدي جديد بأنه أصل للتكاثر، فإن جزيء ح ن ر أو ح ن د المصنع بوساطة خلية العائل قد يكتسب القدرة على أن يضاعف نفسه مستقلا عن الخلية.

ومن مثل هذه الجزيئات التي تسمى الأجسام الفوقية (ابيسومات Episomes) ما يوجد في الخلية. والإبيسومات جزيئات من ح ن د دائري Circular DNA يمكن أن

توجد في حالة ذاتية (مستقلة) Autonomous state ، وهي تتكاثر بذاتها حرة داخل السيتوبلازم وتسمى، عندئذ، بلازميدات Plasmids ، أو أنها تكون في حالة التحام Integration مع الكروموسوم البكتيري. وهي، بهذا الوضع، تشبه فاج البكتيريا لامدا (λ) الذي يوجد في الصورتين. كما يطلق على ح ن د للفاج، أيضًا، مصطلح إيسوم. وما إذا كان الإبيسوم حرًا أو ملتحمًا مع ح ن د للفاج، فإن تتابعاته النيوكليوتيدية تتكاثر مرة واحدة لكل جيل من أجيال خلية العائل ثم ينفصلان كل في إحدى الخليتين البنويتين.

وقد تكون البلازميدات مفيدة تماما لخلاياها العائلة. ويتحركها من خلية إلى أخرى عن طريق عملية الاقتران (العبور Cross) Conjugation، يمكن للإبيسومات أن تستمر في اكتساب جينات ووظائف جديدة. ومن بين إحدى مجموعات الجينات العامة التي تحملها البلازميدات تلك التي ينتج عنها أن تصبح البكتيريا مقاومة للمضادات الحيوية، فهذه الجينات تصنع بروتينات تقوم إما بتكسير أو تحوير المضاد الحيوي وتدمر نشاطه. وفي الواقع، فإن المعلومات الوراثية التي تسمح للخلية البكتيرية كي تعمل كذكر Male (مجازا) وتقترن بإعطائها كروموسومها إنما يشفر لها بمجموعة جينات توجد على الإبيسوم. وحقيقة أن للبلازميدات جيناتها الخاصة (لوظائف مثل مقاومة المضادات الحيوية والخصوبة Fertility) وأنها لا توجد على كروموسومات العائل، تعني أنها قد نشأت مستقلة عن عوائلها.

وأحد الطرق التي تنشأ بها البلازميدات هو طريق اكتسابها مجموعات جديدة بالكامل من الجينات التي غالبًا ما تغرز Inserted في كروموسومات البلازميدات بوساطة عنصر وراثي آخر متحرك Movable هو النقال Transposon. والنقالات الوراثية Genetic transposons هي عناصر من ح ن د DNA مكونة من نحو ٧٥٠ - ٤٠,٠٠٠ نيوكليوتيدة والتي لها القدرة على الحركة من موقع كروموسومي لموقع آخر على كروموسوم آخر. وبهذا، فإن النقالات الوراثية يمكنها أن تحمل بنفسها ضفتين Banks من الجينات ضد مقاومة المضادات الحيوية ووظائف أخرى.

ولكل النقالات الوراثية تركيب عام. وترتبط ضفتا الجينات Banks of genes، المراد تحريكها ونقلها، على كلا جانبي تتابع ح ن د والذي يسمى عنصر الغرز

(IS) Insertion element. وعناصر الغرز IS هي تتابعات من ح ن د DNA sequences والتي تشفر Encode لمعلومات خاصة بحركتها هي من موقع على الكروموسوم إلى كروموسوم ثان. وتنقسم عناصر الغرز IS إلى ثلاثة أقسام رئيسية هي:

١ - ذلك النوع الذي يقطع Cuts نفسه من ح ن د الكروموسوم ويتحرك لموقع آخر حيث ينغرز.

٢ - ذلك النوع الذي يضاعف Duplicates نفسه ويستخدم نفس نسختي ح ن د الخاصتين به والمتضاعفتين ليتحرك إلى موقع آخر على الكروموسوم.

٣ - ذلك النوع الذي يصنع نسخة من ح ن ر RNA copy من على ح ن د الخاص به، والذي، بالتالي، ينسخ إلى ح ن د بوساطة إنزيم النسخ العكسي، ثم يعقب ذلك غرز نسخة ح ن د هذه في كروموسوم. ويطلق، عادة، على النوع الثالث العناصر النقالة العكسية Retrotransposons، والتي تشفر الجين إنزيم النسخ العكسي Reverse transcriptase. وقد وجدت نقالات وثيقة الصلة من الفيروسات العكسية Retroviruses ومن فيروسات هيبادنا Hepadnaviruses في الخميرة وفي الذباب وفي كائنات حية راقية، ومن ثم، فإن هذه تعد ظاهرة عامة.

مما سبق، يتضح وجود مجموعات من جزيئات ح ن د DNA و ح ن ر RNA وهي الإبيسومات وعناصر الغرز الوراثية (النقالة). والتي لها نظم تكاثر مستقلة وتطورت مستقلة عن عوائلها. ومن هنا، فإن الحياة إما أن تكون شكلا متكاملا Integrated form أو شكلا مستقلا Autonomous form، أي أحيانا تكون جزءا من الخلية العائلة وأحيانًا تكون حرة. والمدهش أكثر من ذلك أن بعض الإبيسومات تكون، أيضًا، مورثات (مجينات Genomes) للفيروسات (فاج لامدا) كما أن بعض النقالات الوراثية Genetic transposons تكون وثيقة الصلة بالفيروسات (الفيروسات العكسية وفيروسات هيبادنا). ويبدو من هذه السلسلة المتصلة Continum (الجدول رقم ١٦) أن صور الحياة الجزيئية هذه من الإبيسومات والبلازميدات وعناصر الغرز IS والفيروسات نشأت من بعضها بعضًا.

الجدول رقم (١٦). السلسلة المتصلة continuum لأشكال الحياة الجزيئية (Arnold J. Levine, 1992).

النوع	الخواص
١ - الكروموسوم البكتيري Bacterial chromosome	النيوكليوتيدات ٣×١٠^{٦} : يحتوي على معلومات لتنوع كبير من الوظائف البكتيرية (نحو ٥٠٠٠ جين).
٢ - الإبيسومات Episomes	جزيء ح ن د DNA دائري مختلف في الحجم (عدد في شكل ملتحم ومتكامل)، يمكن أن يحمل جينات للمقاومة للمضادات الحيوية وللخصوبة ولغيرها.
٣ - النقالات Transposons	جزيئات ح ن د DNA، مختلفة في الحجم (٧٥٠ - ٤٠٠٠٠ نيوكليوتيدة) ويمكن أن تتحرك من موقع إلتحام في كروموسوم بلازميد أو كروموسوم بكتيري إلى موقع آخر، يمكن أن تحمل معها جينات أخرى (مثل: مقاومة المضادات الحيوية)، تتكون من تكرارات طرفية Terminal repeats مما يجعلها عناصر غرز.
٤ - عنصر الغرز Insertion (IS) element	جزيء ح ن د DNA، متباين في الحجم، وتشفر تتابعات النيوكليوتيدت هذه لتحريك العنصر من موقع على الكروموسوم لموقع آخر.
٥ - النقال العكسي Retrotransposon	هو عنصر غرز IS يتطلب خطوات ح ن د -إلى ح ن ر إلى-ح ن د من أجل أن يتحرك العنصر، ويشفر لإنزيم النسخ العكسي الخاص به.
٦ - الفيروس العكسي Retrovirus	للفيروس الأولي Provirus (ح ن د DNA) تكرارات طرفية ويشفر لإنزيم النسخ العكسي، وتسمح وظائف جينات جاج gag وإنف env بأن يتحرك الفيروس من خلية لأخرى. (بمعنى، أن يكون معديًا Infectious).

تابع الجدول رقم (١٦).

النوع	الخواص
٧ - فيروس هيبادنا Hepadnavirus	فيروس ح ن د الذي يتكاثر بوساة خطة ح ن د - إلى ح ن ر - إلى ح ن د (DNA - to - RNA - to - DNA) ، باستخدام إنزيم النسخ العكسي.
٨ - الفاج مولد التحلل Lysogenic phage	يمكن أن يوجد في حالة مستقلة أو حالة ملتحمة.
٩ - بلازميد - فيروس Plasmid -virus	يمكن للفاج المولد للتحلل P2 أن يُعلّب بلازميد P4 ، محولا إياه لفيروس باستخدام بروتينات غطاء P2.

ولم تزل بعد إمكانية تصور مجموعة من أحداث الأصل بناء على بعض الخواص الفريدة لـ ح ن ر (RNA). فكما ذكرنا بأن الجزيئات التي تخزن المعلومات وهي ح ن د و ح ن ر، فإنها تختلف، بطبيعة الحال، عن جزيئات أخرى مثل البروتينات التي تعمل كمحفزات للتفاعلات الكيميائية. لذا، فإننا ننظر إلى جزيئات ح ن ر على أنها فريدة من حيث كونها يمكن أن تقوم بكل من تخزين المعلومات في التتابع النيوكليوتيدي، وتحت ظروف خاصة، كعوالم مساعدة بيوكيميائية، أي كإنزيم. فمن المعروف أنه يوجد ٣ تفاعلات كيميائية يمكن حفزها بوساطة ح ن ر وهي:

١ - يمكن لبعض جزيئات ح ن ر أن تقطع سلسلة عديد النيوكليوتيد الطويلة عند موقع معين.

٢ - يمكن لبعض جزيئات ح ن ر أن تقص (تستبعد) Splice تتابعًا داخليًا من النيوكليوتيدات الموجودة في البوليمر، لتحذفها Deleting them، وأن ما يسمى الاستبعاد الذاتي Self - splicing يتطلب **قطع ووصل** السلسلة المستمرة للبوليمر.

٣ - يمكن لبعض جزيئات ح ن ر أن تحفز التصنيع المعتمد على قالب Template - dependent synthesis، فمثلا يمكن لبوليمر يحتوي على العديد من نيوكليوتيدات سايتوسين (CCCCCCCC) أن يصنع بوليمرًا من الجوانين (GGGGGGGG) والذي يزدوج معه فيتكون حلزون مزدوج من ح ن ر. إن القدرة المدهشة على توليد تتابع نيوكليوتيدي مكمل يعني أن ح ن ر يقوم بتخزين المعلومات التتابعية وبأنه يساهم بنشاط في تضاعفه.

وهذه الوظائف الثلاث: التضاعف، والقطوع عند مواضع نوعية، والاستبعاد والتكتيل Splicing and patching تعني أنه لو قام بها ح ن ر وحده وبمعزل، فإن هذا يجعله قادرًا على أن يكون عملية أصل Origin event. فإذا ما افترضنا أن ذلك يمكن أن يحدث، فهل توجد الآن صور من الحياة بخواص هذه الجزيئات التي توقعناها؟ نعم، توجد مثل هذه الكائنات الحية وتسمى فيرويدات Viroids وفيروسويدات Virusoids. وهما أصغر الجزيئات المعروفة ذاتية التكاثر. فالفيرويدات كائنات ممرضة

للنباتات تتكون من ح ن ر مفرد دائري (s -s RNA) ٢٤٠ إلى ٣٧٥ نيوكليوتيدة في الطول. وتحتوي التابعات النيوكليوتيدية في ح ن ر الدائري على مناطق عدية ذاتية التكميل Self-complementaity (بمعنى: أن من القواعد المكملة تتكون C = G و T = A) وأن الجزيء تزدوج قواعده بصورة كبيرة على امتداد طوله (أي يصبح مزدوج الخيط في أجزاء كثيرة ومفردا في بعض أطرافه). يتكاثر الفيرويد في أنوية الخلايا النباتية، ويمكن أن يحدث شذوذًا في النبات أو مرضًا. والفيرويدات أجزاء عارية من ح ن ر ولا يحيط بها الغطاء البروتيني مثل الفيروسات، ولهذا، فإنها لا تستطيع أن تترك الخلية أو النبات بسهولة لتحدث عدوى لآخر. ولهذا السبب، أيضًا، فإن الفيرويدات تفتقر إلى الميزة التي تساعدها في الانتشار إلى عوائل جديدة. لكن ممارسات الإنسان الزراعية والتكاثر الخضري وغيرهما ساعدت في انتشارها لتدمر محاصيل مثل النخيل والطماطم والبطاطس وغيرها.ومن الفيرويدات أيضا عامل دلتا δ المسبب للالتهاب الكبدي د.

أما الفيروسويدات Virusoids فإنها فيروسات الفيروسات - تتطفل على فيروس مساعد Helper virus. والفيروسويدات، كالفيرويدات، جزيئات صغيرة (٢٠٠ إلى ٤٠٠ نيوكليوتيدة) دائرية من ح ن ر والتي تكون مزدوجة القواعد بصورة شاملة في حلزون مزدوج Double - helix وتوجد دائمًا، مع فيروسات نباتية كبيرة وتشفر من أجل تكاثر ح ن ر الصغير (الفيروسويد) وتعليبه Package في دقائق فيروسية. والفيروسويدات تضاعف نفسها في السيتوبلازم وتدخل في عمليات قص وتوصيل Splicing ولتحدد حجمها، ولا بد من تحديد موضع التكاثر بها وهو تتابع نيوكليوتيدي معين، كموضع للتضاعف وذلك بوساطة إنزيم بلمرة يشفر له عن طريق الفيروس المساعد.

وعندما نفحص التابعات النيوكليوتيدية لأنواع عدة من الفيرويدات، فإنه يصبح واضحًا أن مناطق من كروموسوماتها تستعيد تتابعًا نيوكليوتيديًا عامًا وثيق الصلة، على حين تختلف التابعات النيوكليوتيدية الأخرى بشدة بين مختلف جزيئات الفيرويدات. وقد يعني هذا أن كلا من الحفاظ على التابعات النيوكليوتيدية المفيدة

وظيفيًا (وظائف أصل التكاثر والقص والتوصيل الذاتيين Self-splicing) والعملية التطورية لتغير الفيرويدات ككائنات يمكنها أن تجد عوائل جديدة أو أن تتكيف لبيئات جديدة. فإذا كان هذا صحيحًا، إذن، فإن أحداث الأصل للفيروسات الجديدة يمكن أن تحدث في كل الأوقات.

إن الخزان الموجود من العوائل والخلايا والجينات والجزيئات يمكن أن يستخدم باستمرار لتوليد أحداث أصل Origin events وأشكال جديدة من الحياة. وبهذا المعنى، فإن الخلق- بمشيئة الخالق سبحانه وتعالى - يستمر حتى يومنا هذا **(ويخلق ما لا تعلمون)** صدق الله العظيم.

الفصل الثاني والثلاثون

هل الفيروس كائن حي؟!

Is Virus A Living Orgnanism?!

يعدُّ كثير من العلماء الفيروس مجرد تركيب كيميائي، فقط، ولكن له طبيعة خاصة. ويعزى هذا المفهوم لكون التركيب الكيميائي للفيروسات هو الأبسط بين كل الكائنات الحية حتى إنه أبسط من عضيات الخلية مثل الميتوكوندريا (المقتدرات) والبلاستيدات وربما، أيضًا، الريبوزومات خاصة بالنسبة للفيروسات الصغيرة. كما ينظر علماء آخرون للفيروسات على أنها مركبات كيميائية يمكن أن تحضر في صورة بللورات Crystals مثل بللورات السكر أو الملح أو غيرهما. ويرجع الإعتقاد بذلك لصعوبة فحص الفيروسات وزراعتها ورؤيتها وإلى أن ستانلي Stanely وزملاءه إستطاعوا في عام ١٩٣٥م تحضير فيروس تبرقش التبغ TMV في صورة بللورية عالية النقاوة. وكذلك أمكن الحصول على فيروس شلل الأطفال والتقزم الشجيري للطماطم وغيرها في صورة بللورية نقية. علاوة على ذلك، فإن العديد من الفيروسات يمكن أن ترى تحت المجهر الإلكتروني متجمعة ومتكتلة ومتشكلة سواء في السيتوبلازم أو في النواة على شكل بللورات أو أشباه بللورات. ومثل هذه الترتيبات تكون شائعة بين العديد من الفيروسات النباتية والحيوانية. وهناك مجموعة من العلماء ثالثة وجدت أن جزيئات المادة الوراثية للفيروسات من ح ن ر RNA لفيروس تبرقش التبغ TMV قد أمكنها، لوحدها، أن تحدث إصابة ويتكاثر منها الفيروس (فرينكل - كونرات ١٩٥٦م).

وثمة مجموعة رابعة من علماء الفيروسات قد بينت أن الفيروسات لا تستطيع أن تظهر نشاطاتها الأحيائية إلا في داخل الخلايا التي تصيبها، فقط، على حين أنها،

خارج عوائلها، لا تستطيع أن تتكاثر أو أن تبدي أي علامة من النشاطات الأحيائية. وتكون بهذا الشكل مثل الجماد أو البذور أو الجراثيم (الأبواغ) الداخلية للبكتيريا Endospores في سكون مطبق كسكون الأموات! وبناء عليه، فإن الفيروسات تتكاثر وتنتج تغيرات أيضية وتعبيرات مرضية، فقط، في خلايا العائل الذي تصيبه.

ومن ثم، فإن المجموعة الأخيرة من العلماء وغيرهم كثير، ينظرون للفيروسات على أنها، فقط، وحدات Entities أو أجسام Bodies، أو دقائق Particles ذات تركيب كيميائي معين بسيط، وبأنها تظهر نشاطاتها الحيوية داخل العائل، وخارجه، وبهذا، تكون هذه الدقائق الفيروسية مجرد وحدات فيزيائية - كيميائية خاملة Inert physico - chemical entities.

وفي هذا السياق، ومن الدراسات السابقة، قام فرينكل - كونرات Fraenkel-Conrat ووليامز بتفكيك فيروس تبرقش التبغ TMV المنقى إلى مكونيه من البروتين و ح ن ر (RNA). وعندما أعادوا ضبط الأس الهيدروجيني للمحلول المنظم وأضافوا إليه جزيئات البروتين و ح ن ر السابق تفكيكها، كانت الدهشة أن وجدوا أنهم حصلوا على دقائق فيروسية كاملة ومعدية من فيروس تبرقش التبغ TMV ومن ثم، أعيد تكوين Reconstitution الفيروس، وهذه كما نعلم خاصية تنفرد بها الفيروسات وهي التجمع الذاتي - Self assembly. على حين أن أي خلية تجزأ إلى قطع لا يمكن أن تلتحم عند توصيلها معًا ولا تعود مرة أخرى إلى شكلها أو تركيبها أو وظيفتها وإنما تموت. وكذلك يحدث عند قطع أو تجزيء أي كائن حي من النباتات أو الحيوانات أو حتى البكتيريا.

ومن المعلومات السابق ذكرها، حاول بعض العلماء تعريف الفيروسات كما يلي:

١ - وحدات فيزيائية - كيميائية لها المقدرة على التكاثر، فقط، داخل العائل الذي تصيبه وبهذا تسبب مرضًا. ويوحي هذا المعنى بأن الفيروسات ليست حية وليست كائنات.

٢ - وحدات أو دقائق تظهر حيوية، فقط، في الكائن الحي (*in vivo*)، على حين تكون ميتة في المعمل أو خارج الكائن الحي (*in vitro*)، وهذا التعريف يقول إن الفيروس حي Living وغير حي Non - living.

ومن بين الأدلة الأخرى التي عدُّوها تدعيمًا لنظريتهم بأن الفيروس ليس كائنًا حيًا ما يلي:

١ - أن الفيروس تنقصه القدرة الكاملة للتكاثر المستقل.

٢ - أن الفيروس لا يتحرك، ولا يتغذى ولا يُخْرِج ولا يتنفس ولا يشعر... إلخ. وبمعنى آخر، فإن الوظائف الحيوية التي يتميز بها أي كائن حي غائبة تمامًا عن وظائف الفيروس.

٣ - لا يمكن أن يصنع Synthesize بذاته أي من المركبات الكيميائية التي يحتاجها في تركيبه.

٤ - لا يمكن أن يبني أية مواد غنية بالطاقة، كما لا يمكن أن يحرر الطاقة من المركبات الغنية بها. ويرجع ذلك لعدم امتلاكه نظام ليبمان Lippman's system للإنزيمات المؤكسدة - المختزلة - Oxidation- reduction enzymes. وتوجد هذه الإنزيمات في كل أشكال الخلايا والكائنات الخلوية. وبسبب أن الطاقة ضرورية ولازمة لكل العمليات الحيوية، فإن الفيروس لا يستطيع أن يؤدي أية وظيفة حيوية بذاته.

٥ - كل الفيروسات لا تحتوي على ريبوزومات ولا على نظم الآلات Machinery systems اللازمة لبناء البروتين. ومن ثم، فإن الفيروس لا يستطيع، مستقلاً، أن يبني البروتين. ومن المعروف أن كل العمليات الحيوية والمواد التركيبية تعتمد، أساسًا، على البروتينات.

٦ - لا تستطيع الفيروسات استخدام أي أصول أو مواد خام (Precursors) في تركيبها، حتى ولو كانت هذه الأصول متاحة خارج نظام العائل. وهذا يفسر لماذا لا يتكاثر الفيروس على أية أوساط غذائية صناعية أو نصف صناعية مثلما تفعله الأحياء الدقيقة الأخرى.

(٣٢,١) كيف يمكننا أن نعد أي مخلوق بأنه كائن حي

How could we consider any creature as a living organism

من المعروف أن كل الكائنات الحية تظهر وظيفتين رئيسيتين، وهاتان الوظيفتان هما: الوجود Existence (البقاء Survival) والاستمرارية Continuity للأنواع.

(٣٢,١,١) البقاء Existence

نقصد بالبقاء (الوجود) الحفاظ على حياة الكائن. ويتطلب مثل هذا البقاء تأدية العديد من الوظائف الأحيائية مثل التغذية والتنفس والإخراج والشعور... إلخ. وأي وظيفة من هذه الوظائف تعد رئيسية وضرورية للحياة ولحيوية الكائن وأنها تعتمد على وجود جهاز أو عضو أو نسيج أو خلية متخصصة أو نوع أو أنواع متخصصة من العضيات. وبناء عليه، فإن تراكيب الكائن الحي ووظائفه كلها ذات علاقة، ليس بهذا فحسب، ولكنها تعتمد على الطبيعة التطورية لمثل هذا الكائن. ونحن نستطيع أن نرى من الدراسات المقارنة بأن الكائنات وحيدة الخلية إن هي إلا كائنات عالية التعقيد.

إذ إن تراكيب الكائن الحي ووظائفه تكون محكومة بمحتوى الكائن الحي نفسه من المادة الوراثية Genetic material. وبناء عليه، فإن المادة الوراثية تعد أهم تراكيب الكائن الحي. وكيف يمكن لهذه المادة الوراثية (المورث = Genome = المجين = الذخيرة الوراثية = المخزون الوراثي) أن تؤدي مثل هذا الدور في حيوية Vitality الكائن الحي أو وجوده أو بقائه؟ إننا نعلم بالطبع، أن المادة الوراثية هي المكتبة الوراثية (Genetic material (Library لكل الكائنات الحية، حتى ولو كانت وحيدة الخلية. وإنما التعبير عن الجينات (المورثات = Genes) الموجودة بالمورث (مجين = Genome) هو الذي سوف يظهر هذه العمليات الحيوية وتركيب Structure الكائن المعين وملامحه Features.

وتتضمن عملية التعبير عن الجين مسارين Pathways رئيسيين هما:

٣٢,١,١,١) النسخ Transcription

حيث يحدث نسخ للجينات في المورث (مجين = Genome = كروموسوم أو عدة كروموسومات على حسب نوع الكائن) الذي يتكون في الكائنات أولية النواة والكائنات حقيقية النواة الخلوية من ح ن د مزدوج الخيط d-s DNA. وينتج عن النسخ عمل منسوخات Transcripts - من شريط أو أشرطة من ح ن ر مفرد الخيط يطلق عليه مصطلح ح ن ر رسول m.RNA. إذن، فنقل ا لمعلومات الوراثية من المادة الوراثية في صورة شفرة Code من ح ن ر رسول أو انسياب المعلومات الوراثية في صورة شفرة Code من ح ن ر رسول يعد أول خطوة في مسار المنسوخات المشفرة Coded من ح ن ر رسول تكون، بالضبط، تمامًا في الترتيب التتابعي وعدديًا ووصفيًا ونوعيًا، كما هي في الجين أو الجينات الموجودة على جزيء ح ن د ولكنها في صورة شفرية.

٣٢,١,١,٢) الترجمة Translation

الآن يعمل الجين أو الجينات المنسوخة كرسالة وظيفية للجين، إذ تترصص الريبوزومات - في سيتوبلازم الخلية - على جزيء ح ن ر رسول (m RNA) لتكوين معقد من ح ن ر رسول - الريبوزومات والذي يطلق عليه، أحيانًا، عديد الريبوزومات polyribosomes (جسم عديد = Ploysome)، عندئذ، تحل الشفرة Encoded الموجودة على ح ن ر رسول وذلك عن طريق قراءة الرسالة الوراثية تمامًا وحرفيًا وبالحفاظ Conservatively على كل ما تحتوي من معلومات لتنقل وتترجم حروفًا إلى كلمات (الأحماض الأمينية) والتي تُكّون جملاً ومعاني عندما ترتبط الأحماض الأمينية معًا بوساطة الروابط الببتيدية Peptide bonds لتكون عديد الببتيد Polypeptides أو البروتين. ويمكن لكل جزيء من ح ن د لأحد الكروموسومات أن يحتوي على عدة جينات أو عشرات أو مئات أو آلاف من الجينات وربما أكثر. وبالتالي، فإن كل خلية يمكنها أن تصنع مئات وآلافًا من البروتينات التي تختلف في خواصها

ووظائفها. وهذه البروتينات، كما شُفِّر لها بجينات نوعية، هي أهم المكونات الرئيسية في الخلية. وسوف توضح الحقائق التالية وظائفها:

١ - تمد الخلية بشكلها وبنائها المعماري.

٢ - العديد من هذه البروتينات إنزيمات تؤدي أدوارًا حاسمة في كل المسارات الأيضية Metabolic pathways للخلية.

٣ - الكثير من البروتينات هرمونات تكون مطلوبة للعديد من العمليات الحيوية وللاتصالات والمستحثات Stimuli للخلية.

٤ - يعتمد شكل العضيات الخلوية ووظيفتها كلية على بروتيناتها التركيبية، وأحيانًا، على الإنزيمات التي تحتويها. كما أن لكل عضية جينات هي المسئولة عن تكوينها من أصله.

٥ - يتحدد حجم وشكل أي عضو أو جهاز نسيجي أو الكائن ككل نتيجة للتعبير الجيني للمادة الوراثية.

٦ - إن الحركة والتناسل وكل العمليات الحيوية ما هي إلا نتيجة لتراكيب ووظائف يهيمن عليها ويعبر عنها بوساطة المادة الوراثية أي بوساطة جين أو جينات محددة.

وبناء عليه، ومن المعلومات السابق ذكرها، فإنه من الواضح أن كل العمليات الحيوية لأي كائن حي إنما هي نتائج للتعبير الجيني وللمحتوى الجيني الوراثي للكائن. ومادامت هذه الجينات يُعبَّر عنها، فإن الكائن يتواجد ويبقى حيًا وتستمر حياته. لهذا، فإن بقاء Survival أي كائن أو خلية إنما يعتمد كلية على مادته الوراثية وكيفية التعبير الجيني عنها. والفيروس لديه مادته الوراثية النوعية الخاصة والتي يعبر عنها مثلما تعبر أي من الكائنات الحية الأخرى عنها بل إن الفيروس هو الذي عمق فهمنا لطبيعة المادة الوراثية وكيفية التعبير عنها.

(٣٢,١,٢) الاستمرارية Continuity

تشير استمرارية الكائن الحي إلى وجوده أو بقائه إلى ما لا نهاية Indefinite existence (أي إلى ما شاء الله في خلقه) ووجوده المستمر جيلاً بعد جيل. ويؤكد التزاوج Reproduction والتكاثر (التضاعف) Replication لنفس النوع ضمانا في مثابرته Persistence ووجوده الخالدين Eternal. وتدعم هذه الأجيال المتابعة لنفس النوع بقاءه المستمر. ويتم تكاثر أي كائن حي من خلال تكاثر ح ن د DNA replication أي بوساطة مادته الوراثية. ففي كل صور الحياة، مثل الخميرة، والبكتيريا، والنباتات الراقية وكل الحيوانات، يتم التكاثر، فقط، عن طريق تضاعف ح ن د، ويتم بدء Initiation وتقدم (استطالة) Elongation وإنهاء Termination تصنيع ح ن د المتضاعف بوساطة آليات تحكم Control mechanisms تصنع أثناء التعبير الجيني للمادة الوراثية والتي هي بروتينات وإنزيمات. وعادة ما تتكاثر المادة الوراثية بطريقة محافظة Conservatively، بمعنى أن كل الجينات تنتج بنفس العدد والنوعية والتتابع بالضبط.

وعقب تكاثر ح ن د، فإن التعبير عن الجزيئات الخلفة (Progeny = البنوية Daughter) لـ ح ن د وإنتاج آليات ضبط وتحكم ينتج عنها إعطاء خليتين متطابقتين (للكائنات وحيدة الخلية) أو أن الانقسامات Divisions تستمر وتتقدم أبعد لإنتاج كائن عديد الخلايا: ويمكن أن يكون النسل Offspring متطابقًا تمامًا أو يحمل كل الصفات الآتية من الأبوين. ويكون الناتج النهائي للنسل هو التعبير عن الجينات النوعية للكائن والمحددة له.

لهذا، فإن كل الصفات الموروثة Inherited characters لتكرارات Replica الكائن أو للأجيال تكون هي التعبير بطريقة مباشرة أو غير مباشرة عن المادة الوراثية وكذلك انسياب المعلومات الوراثية. ويتقدم مثل هذا الانسياب للمادة الوراثية (الجينات) في هذا التتابع:

١ - المادة الوراثية ← نسخ Transcription ← m RNA (ح ن ر رسول ← ترجمة Translation ← بروتينات نوعية Specific proteins .

٢ - المـادة الوراثيــة + بروتينـات نـوعيــة خاصــة يحــدث **تكــاثر Replication** وتتكون تكرارات Replica من المادة الوراثية.

٣ - تكرارات المادة الوراثية + مزيد من التعبير الجيني ← نسل Offspring جديـد مشـابه للكائن الأبوي.

(٣٢,٢) تطبيق "نظرية الحياة" على الفيروسات

Application of "life theory" on viruses

أولاً: يجب أن نعلـم أن كـل فيروس يحتـوي، أساسًا، علـى مـادة وراثيـة إمـا ح ن د (DNA) وإما ح ن ر (RNA). ولأن الفيروس صغير جدًا في الحجم والشكل وبسيط في التركيب، فهو لا يحتوي على آليات Machinaries لكي تقوم له بالتعبير الجيني والتكاثر. ومع ذلك، فهو قادر على الوصول إلى داخل الخلية العائلة (لاحظ أن وسائل الانتقـال والانتشار ووصول الفيروس للعائل متعددة جدًا) والتي يصيبها ومـن ثـم، يستطيع أن يستخدم بكفاءة كل الآليات الخاصة بخلية العائل من أجل تأدية وظائفه وعلى حسـاب العائل وبإمكانياته، لكن، فقط، بتوجيه مباشر من الفيروس.

وكما نعلم، فإن المادة الوراثيـة الفيروسـية صغيرة جدًا في طولها وفي محتواها وفي كميتها وفي وزنـها الجزيئي وفي عـدد الجينـات (٣ - ٣٠٠ أو أكثر قليلا على حـين تبلغ في البكتيريا أكثر من ٥٠٠٠ جين وفي النبات والحيوان مئات الآلاف أو أكثر). ومن ثم، فإن قدرة التشفير Coding capacity للمعلومـات الوراثيـة المخزنـة بالفـيروس تكـون محدودة جدًا مقارنـة بمثيلاتـها مـن الكائنـات الخلويـة. عـلاوة على ذلـك، فـإن الجينـات المشـفرة Coded genes الفيروسية تكـون، بمثـل هـذا العـدد المحدود، غـير كافيـة علـى المشاركة في المسارات الأيضية. ولكـن تشـارك المنتجـات الجينيـة الفيروسـية، أساسًـا، في إنتاج التراكيب الفيروسـية Viral structures (البروتين + الحـامض النـووي)، وأحيانـا، تستخدم أثناء عملية التجميع Assembly. وطالما أن الفـيروس يكـون قـادرًا علـى تصنيـع مــواده المطلوبــة علــى حســاب محتويــات خليــة العــائل (الآليــات Machinaries،

والريبوزومات Ribosomes والأصول Precursors والبروتينات والطاقة)، وتبعًا لذلـك، فللاقتصاد Economization في المادة الوراثية الفيروسـية، فإنه يسـتخدم إمكانيات خلية العائل ومنتجات مادتها الوراثية الكبيرة الضخمة في تصنيع كل ما يحتاجه من منتجات أيضية. ومثل هذه الاسـتفادة تكـون مفروضـة Dedicated ومحكومة Controlled بوساطة الفيروس المتطفل (المستعمر الـذي يستولي على مقدرات الخليـة ويوجهـها لمصلحتـه الخاصـة، حتى ولـو استنزفها ودمرها وهـذا مـا يحدث كثيرًا ولكـن بعـد أن يتكـاثر). ويفرض الفيروس آليـات تحكـم وتنظيـم Regulation للتعبـير الجيـني لمادتـه الوراثيـة ولتكاثره وتجميعه في فيريونات.

وكما سبق القول، فإن الكائن الحي يظهر عملياته الحيوية من خلال وظيفتين عامتين هما: البقاء والاستمرارية.

وبالنظر إلى بقاء الفيروس ووجوده، نجد أنه يظهر نشـاطاته الحيوية، فقـط، داخل خلية العائل الـتي يصيبها ويتطفـل عليها والـتي بداخلها يفرض التعبير الجيني لمادتـه الوراثيـة. وتقـوم معظـم الفيروسـات بعمـل نسـخ Transcription لمادتـها الوراثيـة معطية ح ن ر رسول (m RNA). وهذه المنسوخات المشفرّة تترجم بالتالي، إلى بروتينـات فيروسية نوعية. وتستخدم هـذه الفيروسـات إنزيمـات النسـخ Transcriptases الخاصـة بالعـائل وإنزيمات أخرى تكـون لازمة للنسـخ الخاص بها. كما توجد مجموعة ثالثـة من الفيروسـات تتميز بأن مورثها (المجين = Genome) يمكـن أن يعمـل كرسالة وراثيـة Genetic message (ح ن ر مرسـال = m RNA) مباشـرة والـذي يـترجم مباشـرة دون الحاجة إلى نسخ. أما المجموعة الأخرى وهي الفيروسات العكسية، فلأنـها تعمـل نسـخًا عكسيًا (عكس كـل المخلوقات)، لـذا نجد أنـها تحتـوي على إنزيـم النسـخ العكسـي الخاص بها.

وبمجرد أن يترجم البروتين الفيروسي، يبدأ المـورث (المجين) في التكـاثر معطيًا خلفـة تكرارية مـن المورث، وبوضـع تكـرارات المورثـات الفيروسية مـع الـبروتين (أو البروتينات تتجمع إلى فيريونات كاملة معدية).

وبناء عليه، فإن الفيروس يوجد ويؤدي عملياته الحيوية ويمكنه أن يستمر ويعيش جيلا بعد جيل. ليس هذا فحسب، ولكن الفيروس يؤكد على قدرته العالية لاستقرار وثبات الخواص الوراثية والشكل والبناء المعماري وطريقة العدوى والتكاثر.

(٣٢,٣) كيف يمكن أن تنشأ الحياة من أشكال خاملة؟

How could life arises from inert forms?

لا يظهر الفيروس أية نشاطات حيوية خارج الكائن الحي الذي يتطفل عليه، لهذا، فإن الكثيرين يعدونه مادة غير حية. ومع ذلك، فإن هذه الدقائق الفيروسية الخاملة يكون لها القدرة على إصابة العائل المضبوط تحت الظروف المناسبة. وبناء عليه، فإنها تتكاثر داخل خلية العائل وتظهر نشاطاتها الحيوية. وبالرغم من ذلك، فإن الحياة لا يمكن أن تبدأ من الموت أو من غير الحياة أو من الجماد.

ونحن نحاور ونجادل هنا لكي نقول إن وجود الفيروس خارج العائل المتخصص عليه يعد طورًا مؤقتًا Transient phase لازمًا من أجل انتشاره Dissemination وإعادة إصابة Reinfection عوائل أخرى جديدة. لهذا السبب، فإنه من المفيد للفيروس ألا يظهر أية نشاطات حيوية خارج العائل لأنه لا يمتلك الآليات الأيضية ولا المصادر اللازمة من مواد خام ومصادر طاقة وإمكانيات الاستفادة من الطاقة، كما أن مادته الوراثية قليلة جدًا جدًا واقتصادية للغاية بحيث توفر له الحماية والوصول إلى العائل الهدف، وبعد ذلك تسيطر على إمكانيات الكائن الحي ومقدراته وآلياته وطاقته حتى تتكاثر وتظهر نشاطاتها الحيوية.

إذن، دعنا نتساءل: ما الفائدة من أن يظهر الفيروس أية نشاطات خارج الخلية التي يصيبها ويتكاثر فيها على حسابها وبتوجيه وتعليمات من مادته وهو في النهاية متواجد فعال ويتكاثر بالآلاف ويعرف غايته ووجهته؟!.

إن مثل هذا الطور المؤقت لوجود الفيروس خاملا خارج العائل، إنما يشبه الطور الكامن Dormant stage لبذور النباتات Plant seeds وللجراثيم (الأبواغ) الميكروبية Microbial spores، وخاصة الجراثيم (الأبواغ) الداخلية للبكتيريا Bacterial endospores والتي يمكن أن تظل في طور الكمون ساعات ، وأيامًا وأسابيع وشهورًا وسنينًا بالمئات إلى أن تتوافر لها الظروف المناسبة للإنبات. ولا ننسى في هذا الشأن حبوب اللقاح Pollen grains، فهي تنتشر من المتوك Anthers وتحملها الرياح أو الحشرات أو المياه إلى أن تصل إلى ميسم الزهرة المناسبة وليس أي ميسم - فتنشط وتخرج منها أنبوبة اللقاح التي تخترق الميسم فالقلم وتصل إلى البويضة فتخصبها وبذا تكون قد أدت وظيفتها، وإذا لم تجد الزهرة المناسبة فتظل هكذ أو تؤثر فيها عوامل الزمن وهكذا الفيروسات!!؟.

المراجع

REFERENCES

ALMA, D.V., P. ROWELL and W.D.P. STEWART (1987). *Metabolic changes associated with cyanophage N-1 infection of cyanobaterium Nostoc muscorum*. Arch. Microbiol,. 148:321327.

ARSON, R. (1980). *Chemically defined antiviral vaccines*. Ann. Rev. Microbiol., 34:593.

BALTMORE, D. (1985). *Retroviruses and retrotransposons: The role of reverse transcription in shaping the eukaryotic genome*. Cell 40:481.

BARKESDALE, L. and S.B. ARDEN. (1974). *Persisting bacteriophage infections. Lysogeny, and ghage conversion*. Ann. Rev. Microbiol. 28:265.

BERG, G.H.L. BODILY, E.H. LENNETTE; J. L. MELNIC and T.G. METALF (1976). *Viruses in water*. American Public Health Association Inc. Washington DC.

BASUN, N. N and B. K. GIRI (1993). *The Essentials of Viruses, Vectors and Plant Disease*. Wiley Eastern Ltd., New Delhi.

BEALE, A. J. (1985). *Epstein-barr virus: Dream or reality of a vaccine*. Nature 18:230.

BEALE, H. P. (1976). *Bibliography of Plant Viruses*. Colombia University Press.

BEATTY,B. J. and C. H. CALISHER. (1991). *Bunyaviridae: Natural history*. Curr. Top. in Microbiol. And Immunol. 169:27.

BENNETT, C.W. (1967). *Plant viruses: transmission by dodder*. In "Methods in Virology". (Maramarosch, K and Koprowiki, H., eds.), Vol.1, pp 93-401. Academic Press New York.

BERNS, K. I., (Ed.) (1984). *The parvoviruses*. Plenum Press, New york.

BERNS, K. I., (1990) *Parvoviridae and their replication*. In virology, 2d ed., eds. N.Field and D. M. Knipe 1743. Raven Press, New rork

BERK. A. J. (1986) *Adenovirus promoter and EIA transactivation*, Ann Rev. Gen. 20;25.

BISHOP, J. M. (1987). *The molecular genetics of cancer*. Science 235:305.

BLASES, R.M. and CULVER, K.W. (1992). *Gene therapy for primary immunodeficiency disease*, Immunodeficiency Rev. 3:329.

BORDEN, E. C. (1986). *Interferons: Expanding therapeutic roles*. New Engl. J. Med. 326:1491.

BOS, L. 1983. *'Introduction to Plant Virolog "*. Longman, London.

BOSWELL, K. F. and A. J. GIBBS 1983. "Viruses of Legumes" :Description and Keys form VIDE. Canberra Publishign and Printing Co., Australia.

BOULOY, M. (1991). *Bunyaviridae: Genome organization and replication strategies*. Av. Vir. Res. 40:235.

BRAMDES. J. and C. WETTER, 1959. *Classification of elongated plant viruses on the basis of their particle morphology*. Virology 8:99-115.

BRUNT, A., K. CRABTREE and A. GIBBS (1990). *Viruses of Tropical Plants*. Australian Centre for International Agricultural Research.

CALOS, M.P., and J. H. MILLER (1980). *Transposable elements*. Cell 20;579.

CATLEY, L. C. *et al.* (1991) / *Oncogenes and signal trasduction*. Cell 64:281.

CAMPELL, A. M., (1978). *How Viruses Insert their DNA into the DNA of the Host Cell*. Readings from Scientific American. W.H. Freeman and Company, San Francisco.

CHANOCL, R. M., and K. McINTOSH. (1990). *Parainfluena viruses*. In Virology, 2d ed., eds. B. N. Fields and D. M. Knipe, 693-988. Raven Press, New York.

COFFIN, J. M. (1992). *Structure and classification of retroviruses*. In The Retoviridae, d. J. A. Levy. Vol. 1. 19 Plenum Press. New York.

COHEN, A. (1969). *Textbook of Medical Virology*. Blackwell Scientific. Publications, Oxford.

CHOEN, S. N., and J. S., SHAPIRO. (1980). *Transposable genetic elements*. Sci. Am. 242 (no. 2):40.

COLLIER, L. and J. Oxford. (1993). *Human Virology*. Oxford Univ. Press. Oxford.

COLRAN, P. M., and C. W. WARD. (1985). *Structure and diversity of the influenza virus neuraminidase.* Curr. Top. Microbiol. Immunol. 114:177.

COZZARELLI, N. R. (1990). *DNA gyrase and the supercoiling of DNA*. Science 207:953.

COROUCH, R. B. (1990). *Rhinoviruse*. In Virology, 2d ed,. Eds. B.N. fields and D.M. Knipe, 607-629. Raven Press, New York.

CROWELL, R. L. and B. J. LANDAU, (1979). *Receptors as determinants of cellular tropism in picornavirus infections*. In Receptors and human disease, eds. A. G. Bearn and P. W. Choppin. 1. Josiah Macy Fdn. Press, New York.

CULVER, J. N., A. G. C. LINDBECK, and W. O. DAWSON, (1991). *Virus-host nteraction of chlorotic and necrotic responses in plants by tobamoviruses*. Ann. Rev. Phytopathol. 29;193.

DAVIS, B. D., R. DULBECCO, H. N. EISEN and H. S. GINSBERG (1973). *Microbiology*. 3rd. Ed., Harper & Row Publishers, Cambridge, UK.

DAVIS, B.D., R. DULBECCO, H. N. EISEN and H. S. GINSBERG. (1973). *Microbiology*. 3rd. Ed., Harper & Row Publishers, Cambridge, UK.

DAWSON, W. O. (1992). *Tobamovirus - plant interaction*. Virology 186:359.

DEACON, J. (1983). *Microbial control of Plant Pests & Diseases*, Aspects of Microbiology 7, Van Nostrand Reinlrold (U.K.). C. Ltd.

DENHARDT, D.T. (1977). *The isometric single-stranded DNA phages, In Comprehensive virology*, eds. H. Fraenkel-Conrat and R. R. Wagner. Vol. 7. 1-104. Plenum Press, New York.

DENHARDT, D. T. (1978). Overview: *A comparison of the isometric and filamentous phages*. In The Single-stranded DNA phages, ed. D. T. Denhardt, D. Dresser, and S. Ray, 645-655. Cold Spring Harbour laboratory, Cold Spring, New York.

DENT, P. B. (1975). *Immunodepression by oncogenic viruses: Mechanisms and relevance to oncogenesis*. In The immune system and infectious diseases. S. Karger, Basle 95.

DIMMOCK, N. J. (1982). *Initial stages in infection with animal viruses*. J. Gen. Virol. 59:1.

DIMMOCK, N. J. and S. B. PRIMROSE (1987). *Introduction to modern virology*. Third Ed. Blackwell Scientific Publications. Oxford.

DIENER, T. O. (1979). *Viroids and viroid diseaases*. John wiley, New York.

DIENER, T.O. (Ed.) (1987). *The viroids. In the viruses*, ed. H. Fraenkel-Conrat Wagner. Plenum Press, New York.

DOANE, F. W. and ANDERSON, N. (1987). *Electron microscopy in diagnostic virology: a practical atlas and guide*. Cambridge University Press, Cambridge.

DOBOS, P., and T. E. ROBERTS. (1982). *The molecular biology of infectious pancreatic necrosis virus*: A review. Can. J. Microbiol. 29:377.

DOHERTY, P. C. and ZINKERNAGEL, R.M. (1974),*T- cell-mediated immunopathology in viral infections*. Transplant. Rev. 19:89.

DUESBERG, P. H. (1987). *Cancer genes: Rare recombinants instead of activated oncogenes*. Proc Natl. Acad. Sci USA 84:2117.

ECKHART, W. (1990). *Polyomavirinae and their replication*. In Virology, 2d ed., eds. B. N. Fields and D. M. Knipe, 1593. Raven Press, New York.

ECHOLS, H., and H. MURIALDO. (1978). *Genetic map of bacteriophage lambda*. Microbiol. Rev. 42:577.

ECHOLS, H. (1986). *Bacterio phage: Temporal switches and the choice of lysis or lysogeny*. Trends Gen. 2:26.

EPSTEIN, M. A., and B. G. ACHONG. (1979). *The Epstein-Barr virus*. Springer-Verlag, Berlin.

EVANS, A. S. (1982). *Viral infections of humans*. Plenum Press, New York.

EVANS, A. S. 3rd. edn (ed.) (1989). *Viral infections of humans : epidemiology and control*, Plenum, New York.

FENNER, F., B. R. McAUSLAN, C. A. MIMS. J. SAMBROOK and D. O. WHITE (1974). *The Biology of animal viruses*. Academic Press. New York.

FIELDS, B. N. and D. M. KNIPE, (ed.) (1990). *Field's Virology* 2nd edn. Rave, New York.

FLINTS, S. J. (1986). *Regulation of adenovirus in RNA formation*. Adv. Vir. Res. 31:169.

FOLKS, T. M., and D. P. BEDNARK. (1992). *Mechanism of HIV-1 latency*. AIDS 6:3.

FRANKEL-CONRAT, H. (1985). *The Viruses Catalogue, Characterization and Classification*. Ed. Plenum Press.

FRANKEL-CONRAT, H., P. C. KIMBAL and J. A. LEVY. (1988). Virology, 2nd ed. Prentice-Hall International Inc. Englewood, New Jersey, USA.

FRANCKI, R. I. B., R. G. MILNE, and T. HATTA. (1985). *Atlas of plant viruses*, vol. 73-100. CRC Press, Boca Raton, Fla.

FRASER, R. S. (1987). *Biochemistry of Virus Infected Plant*, Research Studies Press.

GALASSO, G. J., WHITLEY, R. J. and MERIGAN, T. C. (ed.) (1990). *Antiviral agents and viral diseases of man*. 3rd edn. Raven Press, New York.

GARRO, A. J., and J. MARMUR. (1970). *Defective bacteriophage*. J. Cell. Physiol. 76:253.

GAUTIER, C.,M. GOUY, M. JACOBSONE and R. GRANTHAM, (1981), *Nucleic Acid Sequences Handbook*, vol. 1, Praeger, France.

GEIDUSCHECK, E.P. (1991). *Regulation of expression of the late genes of bacteriophage* T4. Ann. Rev. Genet. 25:437.

GIBBS, A. J. and D. HARRISON. 1980. *Plant Virology, the Principles*. Edward Arnold, London.

GINSBERG, H. S. ed. (1984). *The adenoviruses*. Plenum Press, New York.

GOLDBERG, E. B. (1980). *Bacteriophage nucleic acid penetration*. In bacteriophage T4, ed. Mathews et. Al, Ser. B, vol. 7,115. Champman and Hall, London.

COODING, L. R. (1992). *Virus proteins that counteract host immune defenses*. Cell 1:5.

GREEN, M. (1986). *Transformation and oncogenesis: DNA virus*. In fundamental virology. Eds. B. N. Fields and D. M. Knipe, 183-234. Raven Press, New York.

GREEN, M. (1989). *When the products of oncogenes and anti-oncogenes meet*. Cell 56:1.

GROSS, L. (1983). *Oncogenic viruses*. Pergamon Press, New York.

HAASE, A. T. (1986). *Pathogenesis of lentivirus infections*. Nature 322:130.

HARDY, K. (1981). *Bacterial Plasmids*. Aspects of Microbiology 4, Biogens S. A. Geneva, Switzerland.

HARRIS, K. F. (1981). *Arthropod and nematode vectors of plant viruses*. Ann. Rev. Phytopathol. 19:391.

HAUSMANN, R. (1988). *The T7 group*. In the bacteriophages, ed. R. Calendar, 259. Plenum Press, New York..

HAYASHI, M. *et al.* (1980). *Biology of the bacteriophage* X174. In The bacteriophages 1. Ed. R. Calendar. Plenum Press, New York.

HAYES, S. (1980). *Bacteriophage*. Intervirology 13:133.

HAYWARD, G. S. (1986). *Herpeesviruses: Genome structure and regulation*. In Cancer cells 4[th], ed. M. Botchan *et al.* 59. Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N. Y.

HAYWARD, G.S., and G.R. REYES (1983). *Biochemical aspects of transformation by herpes simplex viruses*. In Advances in viral oncology, ed. G. Klein, Vol. 3, 271-306. Raven Press, New York.

HENDRIX, R. W. *et al.* (1983). *Lambda II*. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N. Y.

HELEMAN, M. R. (1993). *Hepatitis and hepatitis a glimpse of history*. J. Hepat. 18 (Supp.2):S5.

HOLLINGS, M. M. (1987). *Mycoviruses: Viruses that infect fungi*. Adv. Vir. Res. 22:1

HOLMES, F. O. (1939). *"Handbook of Phytopathogenic Viruses"*. Burgess, Minneapolis, Minnesota.

HOWE, M., and E. G. BADE. (1975). *Molecular biology of bacteriophage Mu*. Science 190:624 HOWLEY, P. M. (1993). The molecular biology of papilloma virus transformation. Am. J. Pathol. 113:414.

HOWLEY, P. M. (1990). *Papillomavirinae and their replication*. In Virology, 2d ed., eds. B. N. Fields and D. M. Knipe, 1625. Raven Press, New York.

HUANG, A. S. (1973). *Defective interfering viruses*. Ann. Rev. Microbiol. 27:101.

HULL, R., F. BROWN and C. PAYNE (1989). *Virology Directory and Dictionary of Animal, Bacterial and Plant Viruses*. MacMillan, Great Britain

HUNTER, T. (1984). *The proteins of oncogenes*. Sci. Am. 251:70.

HUSSEIN, M. E. and A. M. SHARAF. (1987). *Viruses infecting squash plant in Egypt*. 1. Identification of a cucumber mosaic virus strain (Giza-1) causing 1985-1986 epidemics. 2[nd] Nat. Conf. Of Pests & Dis. of veg. & Fruits. Ismailia, October, 1987, pp. 962-981.

JACKSON, A.,R. I.B. FRANKI, and D. ZUIDEMA (1987). *Structure and repliation of plant rhabdoviruses*. In The rhabdoviruses, ed. R. R. Wagner, 427-508. Plenum Pres, New York.

JACKSON. A. O; B. G. HUNTER and G. D. GUSTAFSON. (1989). *Hordeivirus relationships of tymoviruses*. Virology 72:1.

JOKLIK. W. K. (1985). *Recent progress in reovirus research*. Ann. Rev. Gen. 19:537.

KARAN. J. D. (Ed.) (1994). *Molecular biology of bacteriophage* T4. American Society for Microbiology. Washington, D. C.

KAWADE, Y., and S. KOBAYASHI. eds. (1988). *The biology of the interferon system*. Kodansha Scientific Ltd., Tokyo, Japan.

KEATING, M. R. (1992). *Antiviral agents*. May Clin. Proc. 67:160.

KIEFF,E., et al. (1983). *Epstein-Barr virus transformation and replication*. In Advance in viral oncology, ed. G. Klein, Vol. 3, 133-182. Raven Press. New York.

KING, L. A. and R. D. POSSEE. (1992). *The baculovirus expression system: A laboratory guide*. Chapman and Hall, New York.

KNIGHT, G. A., (1975). *Chemistry of Viruses*. Springer Verlag, New York.

KOONIN, E. V. ed. (1992). *Evolution of viral genomes*. Seminars in Virol. 3:311.

KOZAK, C. A., and S. RUSCETTI. (1992). *Retroviruses in rodents*. In The Rertoviridae, ed. J. A. Levy, vol. 1, 405. Plenum Press, New York.

LAMBERT, P. F., *et al.* (1989). *The genetics of bovine papillomavirus type 1*. Ann. Rev. Gen Microbiol. 22:235.

LASALLE, G. L. *et al.* (1993). *The adenovirus vector for gene transfer into neurons and glia in the brain*. Science 259:988.

LAURIA, S. E, J. E. Jr, DARNELL, D. BALTIMORE, and A. CAMPBELL, (1978). *General Virology*, 3rd Ed. John Wiley & Sons, New York.

LAY, H. B. (1969). *The Biochemistry of Viruses*. Marcel Dekker, New York.

LENARD, G. and D. MILLER. (1982). *Uncoating of enveloped viruses*. Cell 28:5.

LEONG, J. C. and J. L. FRYER. (1993). *Viral vaccines for aquaculture*. In Annual review of fish diseases. Vol. 3.225. Pergamon Press, New York.

LEWIN, B. (1977). *Phage lambda: Development*. In Gene expression. Vol 3.533. John Wiley & Sons, New York.

LEWIN, B. (1977). *Phage T4*. In Gene expression, ed. B. Lewin. Vol. 3.536. John Wiley, New York.

LEVINE, A. J. (1992). *The p53 Tumor-suppressor gene*. New Engl. J. Med. 326:1350.

LEVINE, A. J. (1992). *Viruses*. Scientific American Library, New York.

LEVY, J. A. (1996). *Multivaceted retrovirus*. Cancer Res. 46:5457.

LEVY, J. A. (1993). *The transmission of HIV and factors influencing progression of diseases*. Am. J. Med., 95:86.

LEVY, J. A. (1993). *Pathogenesis of human immunodeficiency virus infection. Microbiol.* Rev. 57:183.

LEVY, J. A., H. FRAENKEL-CONRAT, and R. A. OWENS (1994). *Virology*. Prentice Hall, New Jersy.

LEVY, S. B. (1992). *The Antibiotic Paradox*. How miracle drugs are destroying the miracles. Plenum Press, New York.

LOH. P. C. (1993). *Spumaviruses*. In The Retroviridae, ed. J. A. Levy, Vol. 2,361. Plenum Press, New York.

LONDON, W. T. (1983). *Hepatitis B virus and primary hepatocellular carcinoma*. In Advances in viral oncology. ed. G. Klein. Vol. 3, 325-341. Raven Press, New York.

LUCIW, P. A., and N. J. LEUNG. (1992). *Mechanisms of retrovirus replication*. In the Retroviridae, ed. J. A. Levy, vol. 1, 159. Plenum Press, New York.

MACFALANE, T. W. and L. P. SAMARANAYAKE, (1989). *Clinical oral microbiology*. Wright, London.

MAHY, B. J. W. (ed.). (1985). *Virology: A practical apprach*. IRL, Oxford.

MANILOFF, J. (1988) *Mycoplasma viruses*, CRC Crit. Rev. Microbiol. 15:339.

MARARAMOSCH, K. (1977). *The Atlas of insect and plant viruses including Mycoplasma viruses and viroids*. (ed) Academic Press. New York.

MATHEWS, C.K. *et al.* (1983) *Bacteriophage T4*. American Society for Microbiology, Washington, D. C.

MATTHEWS, R. E. F. (1982). *Classification and Nomenclature of Viruses*. Fourth Report of the International Committee on Taxanamy of Viruses. Intervirology vol. 17, No. 1-3. Karger, Basel (Switzerland).

MATTHEWS, R. E. F. (1970). *Plant Virology*. Academic Press Inc., USA.

MATTHEWS, R. E. F. (1991). *Plant Virology*. Third Edition, Academic Press Inc. U. A.

McGEOCH, D. J. *et al.* (1978). *Some highlights of animal virus research in 1968*. J. gen. Virol. 68:1501.

McMACKEN, R. *et al* (1978). *Priming of DNA synthesis on viral single-stranded DNA in vitro*. In The single-stranded DNA phages, ed. D. T. Denhardt, D. Dressler, and D.D. Ray, 273-285. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y.

MINDICH, L., and D. M. BANFORD. (1988). *Lipid-containing bacteriophages*. In The bacteriophages 2, ed. R. Calendar, 475. Plenum Press New York.

MIZUNCHI, K. and R. CRAIGIE. (1986). *Mechanism of bacteriophage Mu* transposition. Ann. Rev. Gen. 20:385.

MODEL, P. and R. RUSSEL. (1988). *Filamentous bacteriophages*. In The bacteriophages 1, ed R. Calendar, 375. Plenum Press, New York.

MORSE, H. C., III, *et al.* (1992). *Retrovirus-induced immunodeficiency in the mouse: MAIDS as a model for AIDS*. AIDS 6:607.

MOSIG, G., and EISERLING, F. (1988). *Phage T4 structure and metabolism*. In The bacteriophages 2, ed. R. Calendar. Chap. 9, 521. Plenum press, New York.

MOSS, B. (1990). *Poxviridae and their replication*. In virology, 2d., eds. B.N. Fields and D. M. Knipe, 2079. Raven Press, New York.

MUNIYAPPA, V. (1983). *White flies*. In. "Vectors of Plant Pathegens" (Harris, K. F. and Maramoroch, K. eds), pp. 15-38, Academic Press, New York.

MURPHY, F. A. (1988). *Virus taxonomy and nomenclature*. In Laboratory diagnosis of infectious disease, primciples and practices, ed. E. H. Lennette, P. Halonen, and F. A. Murphy, Vol. 2. Springer Verlag, New York.

NATHANSON, N. (1982). *Eradication of poliomyelitis in the United States*. Rev. Infect. Dis. 4:940.

NAYAK, D. P. *et al.* (1985). *Defective-interfering (DI) RNAs of influenza viruses: Origin, structure, expression and interference*. Cur Top. Microbiol. Immunol. 114:103.

NEVIS, J. R. (1986). *Control of cellular and viral transcription during adenovirus infection*. CRL Crit. Rev. Biochem. 19:307.

NUSS, D. L., and D. J. DALL. (1990). *Structural and functional properties of plants reovirus genomes*. Adv. Vir. Res. 38:249.

ORTH, G., and M. FAVRE. (1985). *Human papilloma viruses: Biochemical and biologic properties*. Clin Dermatol. 3:27.

PARKER, M. T. and L. H. COLLIER (1990). *Topley and Wilson's Principles of Bacteriology, Virology and Immunology*. 8th. Ed., Edward Arnold, London.

PEDERSON, J. R. (1979). *Structural components and replication of arenaviruses*. Adv. Vir. Res. 24:277.

PELCZAR, M. J., JR. E. C. S. CHAN and N. R. KRIEG (1986). *Microbiology*. Fifth Edition; Mc Graw Hill. Book Company, New York.

PETERS, D. and L. M. BLACK (1970). *Infection of primary cultures of aphid cells with a plant virus*. Virology, 40:847-53.

PETTERSSON, U. and G. AKUSJRVI. (1983). *Molecular biology of adenovirus transformation*. In Advances in viral oncology, ed. G. Klein, Vol. 3, 83-131. Raven Press, New York.

PETTERSSON, U. and R. J. ROBERTS. (1986). *Adenovirus gene expression and replication: A historical view*. In Cancer cells 4th ed. M. Botchan et al., eds, 35 Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y.

PHATAK, H. C. (1974). *Seed born Plant viruses identification and diagnosis*. In Seed Health Testing. Seed & Technol. 2:3-155.

PLUMB, R. T. & J. U. THRESH (1983). *Plant Viruses Epidemology*. Blackwell Scsientific Publication. Oxford.

PODGWAITE, J. D. (1985). *Strategies for field use of baculoviruses*. In viral insecticides for biological control, ed. K. Maramorosch and K. E. Sherman. 775-797. Academic Press, New York.

PORTERFIELD, J. S. (1989). *Andrewe's viruses of vertebrates*. 5th Edn, Bailiere Tindall, London.

PROVOST, P. J. *et al.* (1982). *Progress toward a live, attenuated hepatitis A vaccine (41387)*. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 170:8.

PTASHNE, M. *et al.* (1980). *How the lambda repressor and cro work*. Cell 19:1.

RABUSSAY, D. and E. P. GEIDUSCHEK. (1977). *Regulation of gene action in the development of lytic bacteriophages, In comprehensive virology*. Eds. H. Fraenkel-Conrat and R.R. Wagner, Vo. 8. I,1-96. :Plenum Press, New York.

RAPP, F., and F. J. KENKINS. (1981). *Genital cancder and viruses*. Gyn Onc. 12:S25.

REMINGTON, S. J. and J. O. KLEIN, (ed.) (1983). *Infectious diseases of the fetus and newborn infant.* 2nd edn W. B. Saunders. Philadelphia.

RICHTER, K. (1980). *Biosynthesis, Modification and Processing of Cellular and Viral Poly Proteins*. Academic Press, London.

ROITT, I., J. BROSTOFF, and D. MALE, (ed.) *Immunology*. 2nd edn. Chrcill Livingstone, London.

ROIZMAN, B., and A. E. SEARS. (1990). *Herpes simplex viruses and their replication.* In Virology, 2d ed, B. N. Fields and D. M. Knipe, eds. 1795, Raven Press, New York.

ROUSE, B.T., and D. W. HOROHOV,.(1986). *Immunosuppression in viral infections*. Rev. Infect. Dis. 8:850.

ROWE, W. P. (1973). *Genetic factors in the natural history of murine leukemia virus infection*: G. H. A. Clowes Memorial Lecture. Cancer Res. 33:3061.

RUECKERT, R. R. (1986). *Picornaviruses and their replication*. In Fundamental virology, eds. B. N. Fields and D. M. Knipe. 357-390. Raven Press, New York.

SACHS, L. (1987). *Cell differentiation and by - passing of genetic defects in the suppression of malignancy*. Cancer Res. 1981.

SAFFERMAN, R. S. and M. E. MORRIS. (1963). *Algal virus: isolation*. Science 140, 679-680. And. (1964), *Control of algae with viruses*. J. Am. Water Works Assoc. 56, 1217-1224.

SAFFERMAN, R. S. (1868). *Virus diseases in blue-green alage, In Algae, Man and the environment* (D. F. Jackson, ed.) Syracuse University, Syracuse, New York.

SAKSENA, K. N., and P. A. LEMKI. (1978). *Virus diseases in fungi*. In Comprehensive virology, ed. H. Fraenkel - Conrat and R. R. Wagner, Vol. 12. 103-143. Plenum Press, New York.

SALAS, M. (1988). *Phages with protein attached to the DNA ends*. In The bacteriophages I, ed, R. Calendar, 169. Plenum Press, New York.

SALVATO, M. S. (Ed.) (1993). *The Arenaviredae*. Plenum Press, New York.

SCHALLER, H. *et al.* (1978). *Sequence and regulatory signals of the filamentous phage genome*. In The single-stranded DNA phages, ed. D. T. Denhart, D. Dressler, and D. S. Ray, 139-63. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N. Y.

SEMANCIK, J. S., (1987). *Viroids and viroid-like pathogens*. CRC Press, Boca Raton, Fla.

SINGER, R. A. (1976). *Lysogeny and toxinogenicity in Corynebacterium diphtheriae*. In Mechanism in bacterial toxinology, ed. A. W. Bernheimer. 1-30. John Wiley, New York.

SINGLETON, P. and D. SALISBURY (1987). *Dictionary of microbiology and molecular biology.* 2nd edn. John Wiley & Sons, Chichester.

SMITH, K. M. (1967). *Virus-insect relationships*. Longman Group Inc. London.

SMITH, K. M. and D. A. RITCHIE. (1980). *Introduction to virology*. Chapman and Hall, London.

STEINHAUER. D. A., and J. J. HOLLAND. (1987). *Rapid evolution of RNA viruses*. Am. Rev. Microbiol. 41:409.

STEVENS, W. A. 1983. *Virology of Flowering Plants*. Blackie, Glasgow.

STINSKI. M. F. (1990). *Cytomegalovirus and its replication*. In Virology, 2d ed, eds. B. N. Fields and D. M. Knipe. 1959. Raven Press, New York.

STRAUSS, E. G., J. H. STRAUS, and A. J. LEVINE. (1990). *Virus evolution*. In Virology, 2d ed., eds B. N. Fields and D. M. Knipe. Vol. 1, 167. Raven Press, New York.

SUGMURA, K., and Y. HINUMA. (1993). *Human retroviruses*: HTLV-1, HTLV-2. In The Retroviridae, ed. J. A. Levy, Vol. 2. 399. Plenum Press, New York.

SYLVESTER, E. J. and J. RICHARDSON. (1970). *Infection of Hyperomyzus lactucae by Sowthist Yellow vein virus*. Virology, 42:1023-42.

SYMONS, R.H., (1990). *Small catalytic RNAs*. Ann. Rev. biochem. 61:641.

SYMONS, R.H.,(Ed.) (1992). *Viroids and related pathogenic RNAs*. Seminars in Virol. 1:75.

TAMM, I. (1975). *Cell injury wdith viruses*. Am. J. Pathol. 81:163.

TARDIEU, M., R. L. EPSTEIN, and H. L. WEINER. (1982). *Interaction of viruses with cell surface receptors*. Int. Rev. Cytol. 80:27.

TEMIN, J.M. (1980). *Origin of retroviruses from cellular movable genetic elements*. Cell, 21:599.

TEMIN, H. (1992). *Origin and general nature of retroviruses*. In Retroviridae, ed. J. A. Levy. Vol. 1. Plenum Press, New York.

TEMIN, H. M. (1992). *Origin and general nature of retroviruses*. In The retroviridae, ed. J. A. Levy, vol. 1, 1. Plenum Press, New York.

URAKAWA, R. *et al.* (1989). *Synthesis of immunogenic, but non-infectous, poliovirus particles in insect cells by a baculovirus expression vector*. J. Gen. Virol. 70:1453.

VARMUS, H. (1988). *Retroviruses*. Science 240:1427.

WAGNER, R. R., (ed.) (1987). *The rhabdoviruses*. Plenum Press, New York.

WALKEY, D. G. A. (1991). *Applled Plant Virology*. Chapman and Hall, London.

WEISS, R. *et al.* (1982). *RNA tumor viruses*. Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N. Y.

WHITE, J. M. (1990). *Viral and cellular membrane fusion protiens*. Ann. Rev. Physiol. 52:675.

WHITE, J.M., and D.R. LITTMAN. (1989). *Viral receptors of the immunoglubulin superfamily*. Cell 56:675.

WICKNER, R. B. (1989). *Yeast virology*. FASEBJ. 3:2258.

WINKLER, U., W. RUGER and W. WACKERNAGE (1979). *Bacterial Phage and Molecular Genetics*. Springer-Verlog, Berlin.

XIONG, Y., and T. H. EICKBUSH. (1988). *Similarity of reverse transcriptase-like sequences of viruses, transposable elements, and mitochondrial introns*. Mol. Biol. Evol. 5:675.

ZIMMERN, D. (1982). *Do viroids and RNA viruses derive from a system that exchanges genetic information between eukaryotic cells?* Trends Biochem. Sci. 7:205.

ZINDER, N.D., and K. HORINCH. (1985). *Multiregulatory element of filamentous bacteriophages*. Microbiol. Rev. 49:101.

ZUCKERMAN, A. J. BANATVALA, J. E., and J. R. PATTISON (1987). *Principles and Practice of Clinical Virology*. John Wiley & Sons, Chicheser.

ZUR HAUSEN, H. (1989). *Papillomaviruses as carcinomaviruses*. In Advances in viral oncology, vol. 8, 1. Raven Press, New York.

ثبت المصطلحات

أولاً: عربي – إنجليزي

أ

اتصال	Attachment
أجسام محتواة	Inclusion bodies
أحماض نووية	Nucleic acids
اختراق	Penetration
أدنين (أ)	Adenine (A)
إدمصاص	Adsorption
أزوثا يميدين (إيه زد تي)	Azothymidine (AZT)
أسايكلوفير	Acyclovir
إستبعاد تبادلي	Mutual exclusion
استمرار الاستزراع	Subculture
إصابة - عدوى	Infection
بطيئة	Slow
تحللية	Lytic
حادة	acute

راجعة	recurrent
ظاهرة	apparent
مثابرة	persistent
مزمنة	chronic
موضعية	local
آفات (جروح) مزمنة	Chronic lesions
آفات (جروح) موضعية	Local lesions
آفات (جروح) نخرية	Necrotic lesions
أكريدين برتقالي	Acridine orange
إماتة	Mortality
إمراضية	Morbidity
أنتيجين (مولد الضد - جسم غريب)	Antigen
إنزيم	Enzyme
إنزيم بلمرة ح ن د	DNA polymerase
إنزيم بلمرة ح ن ر	RNA polymerase
إنزيم تفكيك	Gyrase
إنزيم ثايميدين كاينيز	Thymidine kinase
إنزيم لحام	Ligase
إنزيم محلل خارجي	Exonuclease
إنزيم محلل داخلي	Endonuclease
إنزيم محلل موضع الاستقبال	Receptor destroying enzyme (RDE)
إنزيم نسخ	Transcriptase

إنزيم نسخ عكسي	Reverse transcriptase (RT)
أوبار	Pili
أولية النواة	Prokaryotes
إيدز (مرض نقص المناعة المكتسبة)	AIDS
إيشيريشيا كولاي (البكتيريا القولونية)	*Escherichia coli*

ب

بادىء	Primer
بدء	Initiation
بدون أعراض	Asymptomatic
بروتين	Protein
بروتين نووي	Nucleoprotein
بروتين نووي ريبوزي	Ribonucleoprotein
بكتيريا	Bacteria
بلازميدات	Plasmids
بلاعم (لاقمات) كبيرة	Macrophages

ت

تأثير مرضي خلوي	Cytopathic effect (CPE)
تأثير مرضي خلوي بؤري	Focal CPE
تبرقش	Mosaic
تتابعات	Sequences
تتابعات غرز	Insertion sequences
تحت عائلة الفيروسات البطيئة	Lentivirinae
تحت العائلة الفيروسية السرطانية	Oncovirinae

تحلل	Lysis
تحلل دموي	Haemolysis
تداخل (ممانعة)	Interference
تدمم البول	Haemoglobinuria
تذييل	Tailing
ترجمة	Translation
تسمم وشيقي	Botulism
تشخيص	Diagnosis
تضخيم	Amplification
تطعيم (تحصين - تمنيع)	Vaccination
تعددية الإصابة	Multiplicity of infection (m.o.i)
تعليب (لف)	Packaging
تفاعل سلسلة إنزيم البلمرة	Polymerase chain reaction (PCR)
تقشير	Uncoating
تكاثر	Replication = multiplicaton
تكميل	Complementation
تماثل	Symmetry
إيكوزاهيدرالي	Icosahedral
ثنائي	Binal
حلزوني	Helical
دوراني	Rotational
معقد	Complex

ث

Thymine (=T)	ثايمين (ت)

ج

Smallpox	جدري الإنسان
Fowlpox	جدري الطيور
Sheeppox	جدري الغنم
Chickenpox	جدري كاذب (جدري مائي - عنقز)
Macromolecules	جزيئات كبيرة
Antibody	جسم مضاد
Guanine = G	جوانين = ج
Gene	جين (مورثة)

ح

Ribonucleic acid (RNA)	حامض نووي ريبوزي (ح ن ر)
Deoxyribonucleic acid (DNA)	حامض نووي ريبوزي منزوع الأوكسجين (ح ن د)
Eukaryotes	حقيقات النواة
DNA	ح ن د (دنا = د. ن. أ)
d.s-	مزدوج الخيط
s.s-	مفرد الخيط
RNA	ح ن ر (رنا = ر. ن. أ)
Negative sense RNA	ح ن ر سالب المعنى

- مزدوج الخيط	d.s-
- مفرد الخيط	s.s-
ح ن ر موجب المعنى	Positive sense RNA
حصبة	Measles
حصبة ألمانية	Rubella
حمى صفراء	Yellow fever

خ

خريطة وراثية	Genetic map
خطوط خلوية	Cell lines
خلايا ليمفاوية - ب	B-lymphocytes
خلايا ليمفاوية - ت	T-lymphocytes
خلايا هجين سرطانية	Hybridoma

د

دقائق دين	Dane's particles
دقائق فيروسية	Virus particles
دقائق فيروسية قياسية	Standard virus particles
دقائق فيروسية ناقصة	Defective virus particles

ر

راشح	Filterate
راشح عال	Ultrafilterate
رائقة	Plaque

ز

Peplomers	زوائد - أشواك نتوءات

س

Negative sense	سالب المعنى
Cancer	سرطان
Cancerous-(onogenic)	سرطاني
Strains	سلالات
Cytosine = C	سيتوسين = س

ش

Chlorosis	شحوب يخضوري
Velogenic	شديد الضراوة
Replication fork	شوكة تكاثر
Chenopodium amaranticolor	كينوبوديام أمرانتيكولور (نبات)

ط

Centrifugation	طرد مركزي
High speed centrifugation	طرد مركزي عالي السرعة
Low speed centrifugation	طرد مركزي منخفض السرعة
Mutations	طفرات
Mutant	طفرة

ع

عامل متمم (في المصل)	Complement
العائلة الفيروسية أدنو (الغدد)	Adenoviridae
العائلة الفيروسية بابوفا	Papovaviridae
العائلة الفيروسية بارفو	Parvoviridae
العائلة الفيروسية بونيا	Bunyaviridae
العائلة الفيروسية بيرنا	Birnaviridae
العائلة الفيروسية بيكورنا	Picornaviridae
العائلة الفيروسية التاجية	Coronoviridae
العائلة الفيروسية المخاطية الأصلية	Orthomyxoviridae
العائلة الفيروسية السرطانية ح ن ر	Oncornaviridae
العائلة الفيروسية الخيطية	Filoviridae
العائلة الفيروسية الرملية	Arenaviridae
العائلة الفيروسية الصفراوية	Flaviridae
العائلة الفيروسية العصوية	Rhabdoviridae
العائلة الفيروسية العكسية	Retroviridae
العائلة الفيروسية القوبائية	Herpesviridae
العائلة الفيروسية الكأسية	Caliciviridae
العائلة الفيروسية ريو	Reoviridae
العائلة الفيروسية شبة المخاطية	Paramyxoviridae
عائلة فيروسات الجدري	Poxviridae
عديد الببتيدات	Polypeptides

عديد النيوكليوتيدات	Polynucleotides
علم الوبائيات	Epidemiology

غ

غطاء - علبة - محفظة - صدفة - كابسيد	Capsid
غلاف	Envelope

ف

فترة خسوف (كمون)	Eclipse period
فترة كمون	Latent period
فيروس	Virus
فيروس أولي	Provirus
فيروس ملتحم	Integrated virus
فيروس مولد للسرطان	Oncogenic virus
فيروس ناقص	Defective virus

ق

قالب	Template
قطع أوكازاكي	Okazaki pieces
قليل الضراوة	Lentogenic
قوباء نطاقية	Zoster (=shingles)

ك

كيوبيتا (لاقم)= فاج	Q - B (phage)



LAV	لاف (اختصار فيروس مرض الغدد الليمفاوية التسمية الفرنسية لفيروس الأيدز)
Phage (=Bacteriophage = Virus)	لاقم (لاقم بكتيريا = فيروس بكتيري)
Prophage	لاقم أولي
Integrated phage	لاقم ملتحم
Vaccine	لقاح

م

Variants	متباينات
Interferon	متداخل (ممانع أ إنترفيرون)
Synchronous	متزامن
Pleomorphic	متغير الشكل
Contractile	متقبض
Endemic	متوطن
Inoculum	محقن
Haemolysin	محلل دموي
Syncytium	مدمج خلوي
Ultrafilter	مرشح عالي
Poliomyelitis	مرض شلل الأطفال
Double stranded	مزدوج الخيط
Operator	مُشَغِّل
Operon	مشغل (أوبيرون)
Antivirals	مضادات فيروسية
Assay	معايرة

معزز	Adjuvant
مغلف	Enveloped
مفرد الخيط	Single stranded
مكمل (خيط حامض نووي)	Complementary
ملزن دموي	Haemagglutinin
منسوخة (ح ن ر رسول)	Transcript (mRNA)
مورث = مجين = جينوم	Genome
موهن - مضعف	Attenuated

ن

نخري	Necrotic
نضج	Maturation
نمط جيني	Genotype
نمط شكلي	Phenotype
نيوكليوتيدات	Nucleotides
نيوكليوسيدات	Nucleosides
نيوكليويد	Nucleoid

و

وحدة تكوين رائقة	Plaque forming unit (p.f.u)
وحيد التكوين	Monocistronic
وهن-إضعاف	Attenuation

ي

يوراسيل (ي)	Uracil (U)

ثانياً: إنجليزي – عربي

A

Acridine orange	أكريدين برتقالي
Actinophage	فاجات الأكتينومايسيتات
Activation	تنشيط
Acyclovir	أسايكلو فير
Adenine	أدينين
Adenoviridae	عائلة فيروسات أدنو (الغدد)
Adenovirus	فيروس الغدد (أدنو)
Adenostellovirus	فيروس مذنب أدنو
Adjivant	معزز
Adsorption	إدمصاص
Aetiology	مصدر أو مسبب المرض
AIDS	الأيدز
Amplification	تضخيم
Anticodon	حل الشفرة
Antibody	جسم مضاد
Antigen	أنتيجين (جسم غريب - مولد المضاد)
Antigenic drift	انحراف أنتيجيني
Antigenic shift	تغيير (تبديل) أنتيجيني
Antivirals	مضادات فيروسية
ARBO Viruses	الفيروسات المنقولة بالمفصليات

Architecture	بناء (هندسة) معماري
Arenavirade	فيروسات العائلة الرملية
Assay = titration	معايرة
Assembly	تجميع
Asymptomatic	بدون أعراض
Attachment	اتصال
Attenuated	موهن – مضعف – مخمد
Attenuation	وهن – إضعاف – إخماد
Azothymidine (AZT)	أزوثايميدين (إيه – زد – تي)

B

B -19 virus	فيروس – ب ١٩
Baculo Virus	فيروس باكيولو
Bacteria	بكتيريا
Bacteriocins	بكتيريوسينات
Bacteriophages	لاقمات بكتيريا (فيروسات البكتيريا) بكتيريوفاجات
B-lymphocytes	الخلايا الليمفاوية – ب
Birnaviridae	عائلة فيروسات بيرنا (ثنائية ح ن ر)
Botulism	تسمم وشيقي
Bunyaviridae	عائلة فيروسات بونيا

C

Calciviridea	العائلة الفيروسية الكأسية
Capsid	غطاء – علبة – محفظة – (كابسيد)

كابسوميرات (مكونات الغطاء)	Capsomeres
مزارع خلوية	Cell Cultures
خطوط خلوية (خلايا مستديمة الاستزراع)	Cell Lines
طرد مركزي	Centrifugation
مبرد	cooled
تفاضلي	differential
عال السرعة	high speed
منخفض السرعة	low speed
الجدري الكاذب - الجديري - الجديري المائي(العنقز)	Chickenpox
كينوبوديام أمارانتيكولور (نبات)	*Chenopodium amaranticolor*
شحوب يخضوري	Chlorosis
جروح شحوبية	Chlorotic lesions
شفرات	Codons
نهايات لاصقة	Cohesive ends
إصابات مترافقة	Co-infection
كوليسينات	Colicins
العامل المتمم	Complement
اختبار تثبيت المكمل (العامل المتمم)	Complement fixation test
مكمل	Complementary
تكميل	Complementation
إقتران - تزاوج	Conjugation
متقبض	Contractile

Conversion	انقلاب - تحول
Coronaviridae	عائلة الفيروسات التاجية
Cytocidal	قاتل للخلايا
Cytopathic effect (CPE)	تأثير مرضي خلوي
Cytosine = C	سيتوسين (س)

D

Dan's Particles	دقائق دين
Datura stramonium	داتورة سترامونيام
Defective interferring virus particlees (DI)	دقائق فيروسية ناقصة متداخلة
Defective virus	فيروس ناقص
Denatured	خرج عن طبيعته
Deoxyribonucleases	إنزيمات محللة الحامض النووي الريبوزي منزوع الأوكسجين
(Deoxyribonucleic Acid (DNA)	حامض نووي ريبوزي منزوع الأوكسجين (ح ن د)
Deoxyribose	سكر ريبوز منزوع الأوكسجين
Diagnosis	تشخيص
Disease	مرض
AIDS	إيدز
Bluge tongue	زرقة اللسان في الغنم
Foot and Mouth	الحمى القلاعية
Measles	الحصبة
Mumps	الغدة النكفية
Poliomycelitis	شلل الأطفال
Rabies	السعار
Rinderpest	الطاعون البقري

Rubella	الحصبة الألمانية
DNA	ح ن د
ds-	مزدوج الخيط
ss-	مفرد الخيط
DNA polymerase	إنزيم بلمرة ح ن د

E

Ebolavirus	فيروس إيبولا
Eclipse Period	فترة خسوف
ELISA	إليزا (اختصار المعايرة بالإنزيم المرتبط والمدمص مناعيًا)
Elongation	استطالة
Encephalytis	التهاب مخي
Endocytosis	الابتلاع الخلوي الداخلي
Endemic	متوطن
Endonuclease	إنزيم نووي داخلي
Envelope	غلاف
Enveloped	مغلف
Enzyme	إنزيم
Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)	المعايرة بالإنزيم المرتبط والمدمص مناعيًا (إليزا)
Epidemic	وبائي
Epidemiology	علم الوبائيات
Episomes	أجسام فوقية (إيبيزومات)
Erythrocytes	خلايا الدم الحمراء

Escherichia coli	إيشيريشيا كولاي (البكتيريا القولونية)
Eukaryotae	حقيقيات النواة
Exonucleases	إنزيمات نووية خارجية

F

Filoviridae	عائلة الفيروسات الخيطية
Fingerprintings	البصمات
Fish Lymphocytosis Disease Virus	فيروس مرض التكيس الليمفاوي في الأسماك
Flaviviridae	عائلة الفيروسات الصفراوية
Focal assay	المعايرة الموضعية (البؤرية)
Focal CPE	تأثير مرضي خلوي بؤري
Fowl pox	جدري الطيور

G

Gemini viruses	فيروسات توأمية
Gene	جين (مورثة)
Gene mapping	عمل خريطة وراثية
Genetic	وراثي
Genetic map	خريطة وراثية
Genome	مورث - مجين - تكوين وراثي - ذخيرة وراثية
Genotype	نمط جيني
Gomphrena globosa	جومفريناجلوبوزا
Granulosis	المرض الحبيبي في الحشرات (جرانيولوزيس)
Guanine (G)	جوانين (ج)

Gullain-Barre' syndrome	متلازمة جولين - باريه
Gyrase	إنزيم التفكيك

H

Haemadosorption	إدمصاص دموي
Haemagglutination	تلزن دموي
Haemagglutination-inhibition (HI)	تثبيط التلزن الدموي
Haemaglutinin	ملزن دموي
Haemoglobinuria	تدمم البول
Haemolysin	محلل دموي
Haemolysis	تحلل دموي
Hepadniviridae	عائلة فيروسات الكبد ح ن د (هيبادنا)
Herpesviridae	عائلة فيروسات القوباء
Homogenate	مهروس الخلايا
Host range	مدى العوائل
Hybridoma	خلايا هجين سرطانية
Hypersensitive	مفرط الحساسية
Hypersensitivity	فرط الحساسية
HIV	فيروس النقص المناعي البشري (إتش أي في) اختصار
HTL V-I	فيروس الخلايا البشرية الليمفاوية ت رقم واحد (اختصار)
HTL V-II	فيروس الخلايا البشرية الليمفاوية ت رقم اثنين (اختصار)
HTL V-III	فيروس الخلايا البشرية الليمفاوية ت رقم ثلاثة (اختصار)

I

Inclusion bodies	أجسام محتواه
Infect	يعدي - يصيب

Infection	عدوى - إصابة
Acute	حادة
Apparent	ظاهرة
Cancer	سرطانية
Chronic	مزمنة
Inarparrent	غير ظاهرة
Masked	ممسوكة
Persistent	مثابرة
Recurrent	معاودة
Slow	بطيئة
Infectious bronchitis virus	فيروس إلتهاب الشعب الهوائية المعدي
Infectious pancreatic necrosis virus	فيروس نخر البنكرياس المعدي في الأسماك
Initiation	بدء
Inoculation	حقن
Inoculum	محقن
Integrae (ligase)	إنزيم لحام
Integration	تكامل (التحام)
Interferon	المتداخل - الممانع - إنترفيرون
Immune	مناعي
Immunization	تحصين - تمنيع
Immunity	مناعة
Immune deficiency virus	فيروس نقص المناعة المكتسبة (المسبب للإيدز)
in vitro	في المعمل
in vivo	في الكائن الحي
Iridoviridae	عائلة فيروسات إيريدو

J

صفراء	Jaundice

L

لاف (اختصار فيروس مرض الغدد الليمفاوية التسمية الفرنسية الأولى لفيروس الإيدز)	LAV
تحت العائلة الفيروسية البطيئة (العائلة العكسية : فيروس الإيدز)	Lentivirinae
قليل الضراوة	Lentogenic
إصابة موضعية	Local infection
جروح موضعية	Local lesions
إنزيم لحام	Ligase
لحام	Ligation
مولد للتحلل	Lysogenic
ظاهرة تولد التحلل (ليسوجيني)	Lysogeny
تحلل	Lysis
إصابة تحللية	Lytic infection

M

جزيئات كبيرة	Macromolecules
لاقمات (بلاعم) كبيرة	Macrophages
نضج	Maturation
حصبة	Measles
وسطى الشراسة	Mesogenic
إم إم آر(اختصار اللقاح الثلاثي للحصبة والغدة النكفية والحصبة الألمانية)	MMR
جزء ح ن ر رسول يكون تركيباً واحداً من البروتين (أحادي البروتين)	Monocistronic
أجسام مضادة وحيدة النسيلة	Monoclonal antibodies
إمراضية	Morbidity

Morphogenesis	التشكيل
Mortality	إماتة
Mosaic	تبرقش
Mottling	تزركش
Mouse mammary tumor virus	فيروس سرطان الثدي في الفئران
Multiparticle virus	فيروس متعدد الدقائق
Multiplication	تكاثر
Multiplicity of infection (m.0.1)	تعددية الإصابة
Mumps virus	فيروس الغدة النكفية
Mutant	طفرة
Mutagenices	توليد الطفرات
Metagenic	مطفر
Mutual exclusion	الإستبعاد التبادلي

ن

Necrotic	نخري
Necrotic lesions	جروح نخرية
Negative sense	سالب المعنى
Neuraminidase	نيورامينيدبز
Nicotiana glutinosa	نيكوتيانا جلوتينوزا (نوع من التبغ)
Nicotiana tabacum	نيكو تيانا تاباكام (نوع من التبغ)
Nitrogenous bases	قواعد نيتروجينية
Nucleic acids	أحماض نووية
Nucleases	إنزيمات محللة الأحماض النووية
Nucleocapsid	الحامض النووي والغطاء
Nucleoprotein	بروتين نووي

نيوكليوسيدات	Nucleosides
نيوكليوتيدات	Nucleotides

O

قطع أوكازاكي	Okarzaki pieces
عائلة الفيروسات السرطانية ح ن ر	Oncornaviridae
تحت عائلة الفيروسات السرطانية ح ن ر	Oncornavirinae
فيروس سرطاني	Oncovirus
إطار قراءة مفتوح	Open reading frame (ORF)
مُشغل	Operator
مَشغَل (أوبيرون)	Operon
عائلة الفيروسات المخاطية	Orthomyxoviridae

P

تعليب (لف)	Packaging
وباء عالمي	Pandemic
فيروس بابيللوما	Papilloma virus
عائلة فيروسات بابوفا	Papovaviridae
عائلة الفيروسات شبه المخاطية	Paramyxoviridae
عائلة فيروسات بارفو	Parvoviridae
فيروس بارفو	Parvo virus
زوائد نتوءات - أشواك	Peplomers
دائم التغير	Permuted
فاج =لاقم (بكتيريوفاج)	Phage (Bacteriophage)
نمط مظهري (شكلي)	Phenotype
فيروسات الطحالب	Phycoviruses
عائلة فيروسات ح ن ر الصغيرة (بيكورنا)	Picornaviridae

Pili	أوبار
Plasmids	بلازميدات (مادة وراثية زائدة في الخلية)
Plaque	رائقة (بلاك)
Plaque-forming unit (p.f.u)	وحدة تكوين رائقة = فيريون
Pleomorphic	متغير الشكل
Poliomyelitis	مرض شلل الأطفال
Polyamines	عديدات الأمين
Polycistromic	عديد التكوين (ح ن ر رسول يكون عديد البروتينـات)
Polyethylene glycol-6000	بولي إيثلين جلايكول - ٦٠٠٠
Polyhedrosis	مرض تعدد الأضلاع (في الحشرات =بوليهدروزيس)
Cytoplasmic	مرض تعدد الأضلاع السيتوبلازمي
Nuclear	مرض تعدد الأضلاع النووي
Polyoma virus	فيروس بوليوما (متعدد الأورام)
Polymerase	إنزيم البلمرة
Polymerase chain reaction (PCR)	تفاعل سلسلة إنزيم البلمرة (بي سي آر)
Polynucleotides	عديد النيوكليوتيدات
Polypeptides	عديد الببتيدات
Positive sense RNA	ح ن ر موجب المعنى
Poxviridae	عائلة فيروسات الجدري
Primer	بادىء
Prions	بريونات
Prophage	لاقم أولي
Provirus	فيروس أولي
Purines	بيورينات

Pyrimidines	بيريميدينات

Q

Q-β phage	كيو بيتا (لاقم) فاج

R

Radial immune haemolysis	التحلل الدموي المناعي القطري
Radioimmuno assay (RIA)	المعايرة المناعية الإشعاعية
Receptor	مستقبل
Receptor destroying enzyme (RDE)	إنزيم محطم موضع الإستقبال
Recombinant	معاود الارتباط
Recombinant DNA	ح ن د معاود الارتباط
Recombinant DNA technology	تقنية ح ن د معاود الارتباط
Release	تحرر - خروج
Reoviridae	عائلة فيروسات ريو
Reovirus	فيروس ريو
Replication	تكاثر
Replication fork	شوكة تكاثر
Replicative intermediate (RI)	وسيط تكاثري
Repressor	كابح
Retroviridae	عائلة الفيروسات العكسية
Retrotransposons	نقالات عكسية
Retrovirus	فيروس عكسي
Reye's Syndrome	متلازمة ريي
Rhabdoviridae	عائلة الفيروسات العصوية (رابدو)
Rhinitis	مرض الرشح

Rhinoviruses	فيروسات الرشح
Ribonucleases	إنزيمات محللة الأحماض النووية الريبوزية
Ribonucleic acid (RNA)	حامض نووي ريبوزي (ح ن ر)
RNA	ح ن ر
ds-	مزدوج الخيط
ss-	مفرد الخيط
mRNA	رسول
tRNA	ناقل
RNA polymerase	إنزيم بلمرة ح ن ر

S

Satellite virus	فيروس مذنب
Self assembly	التجميع الذاتي
Sequences	تتابعات
insertional	تتابعات الغرز
Strains	سلالات
Subacute sclerosing panencephalitis	الالتهاب المخي الشامل التصلبي تحت الحاد
Subculture	استمرار الاستزراع - إعادة الزراعة
Superinfection	إصابة فوقية
Susceptibe	قابل للإصابة - حساس
Symmetry	تماثل
Binal	ثنائي
Complex	معقد
Helical	حلزوني
Icosahedral	إيكوزاهيدرالي

Rotational	دوراني
Symptoms	أعراض
Synchronus	متزامن
Syncytia	مدمجات خلوية
Systemic infection	إصابة جهازية

T

T-even phages	فاجات - ت الزوجية
T-odd phages	فاجات - ت الفردية
Tailed phages	فاجات مذيلة
Tailing	تذييل
Temperate phage	فاج معتدل
Temperature sensitive mutant	طفرة حساسة للحرارة
Template	قالب
Termination	إنهاء
Terminal repeats	تكررات طرفية
Tissue cultures	مزارع نسيجية
continuous	مستديمة
primary	إبتدائية
secondary	ثانوية
Togaviridae	عائلة الفيروسات العبائية
Toroviridae	عائلة الفيروسات التختية
Transcript	منسوخة
Transcriptase	إنزيم النسخ
Transcription	النسخ
Transduction	توصيل المادة الوراثية

Transformation	تحويل وراثي = تحول سرطاني على مستوى الخلية
Translation	ترجمة
Turnip yellow mosaic virus	فيروس التبرقش الأصفر في اللفت
Thymidine Kinase	إنزيم ثايميدين كانيز
Thymine = T	ثايمين (ث)

U

Ultracentrifuge	جهاز طرد مركزي فائق السرعة
Ultrafilter	مرشح عال ضد بكتيري
Ultrafiltrable agent (= virus)	عامل فوق الترشيح العالي (= فيروس)
Ultrafiltrate	مرشح عال
Ultrafiltration	الترشيح العالي
Uncoating	تقشير
Uracil = U	يوراسيل = ي

V

Vaccine	لقاح - طعم
Vaccination	تطعيم - تحصين - تلقيح
Variants	متباينات (سلالات)
Variegation	تبرقش - كسر اللون
Velogenic	شديد الضراوة
Viratae, Kingdom	مملكة الفيروسات
Virion	فيريون
Viroid	فيرويد
Virus	فيروس

دقيقة فيروسية	Virus particle
فيراسويد	Virusoid

Y

الحمى الصفراء	Yellow fever
فيروس الحمى الصفراء	Yellow fever virus

Z

قوباء نطاقية	Zostrer (= shingles(

كشاف الموضوعات

أ

ب

ت

ل



ن

هـ

و

الدكتور/ ماهر البسيوني حسين

● ولد بجمهورية مصر العربية

● حاصل على بكالوريوس في الكيمياء والأحياء من كلية التربية - جامعة عين شمس ودبلوم خاصة في مناهج العلوم والصحة النفسية، وبكالوريوس العلوم من كلية العلوم بجامعة عين شمس بامتياز مع مرتبة الشرف.

● حصل على الماجستير في علم الفيروسات من جامعة ريدنج بإنجلترا والدكتوراه في علم الفيروسات من جامعة المنصورة.

● أجرى دراسات عليا بجامعات عين شمس وريدنج وكلية واي (جامعة لندن) وكلية الطب جامعة كولورادو بالولايات المتحدة الأمريكية.

● عمل معيداً ومدرساً مساعداً منذ عام ١٩٦٢م في كليات التربية والعلوم - بجامعات عين شمس والمنيا والمنصورة.

● عمل مدرساً وأستاذاً مساعداً وأستاذاً بكلية العلوم جامعة الأزهر.

● قام بتدريس العديد من مقررات النبات والأحياء الدقيقة، كما عمل أستاذاً منتدباً لتدريس مقررات الفيروسات والمناعة والأحياء الدقيقة في جامعات عين شمس والزقازيق والمنصورة وقناة السويس وأسوان.

● درس مقررات معتمدة في علم المناعة وفروعها بجامعة ريدنج بإنجلترا وعدة مقررات متقدمة بكلية الطب - جامعة كولورادو بأمريكا.

● أشرف على العديد من رسائل الماجستير والدكتوراه في عدة جامعات.

● له أكثر من خمسين بحثاً في مجالات عزل وتصنيف فيروسات البكتيريا والنبات وعن المضادات الفيروسية لفيروسات الإنسان والحيوان والنبات وكذلك الدراسات البيئية للفيروسات والتلوث الميكروبي.

● قام بتأليف وترجمة العديد من الكتب في علوم النبات والأحياء الدقيقة.

● من بين كتبه المؤلفة :

الفيروسات الممرضة والإنسان.

● من بين كتبه المترجمة :

١- الأيدز والفيروسات الجديدة.

٢- علم المناعة.

٣- الوجيز في الفيروسات الطبية.

٤- مقدمة في علم الهندسة الوراثية.

● عضو بالعديد من الجمعيات العلمية المصرية والعربية والدولية.

● شارك في ترجمة الموسوعة العربية العالمية.

● اشترك في العديد من المؤتمرات العلمية المحلية والدولية.

● له نشاط أدبي وثقافي عام.